

Biochemische Diagnosesicherung und Risikostratifizierung des akuten  
Koronarsyndroms unter besonderer Berücksichtigung der kardialen Troponine

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia legendi

im Fach Innere Medizin

an der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin

Vorgelegt von Dr. med. Martin Möckel aus Hamburg

Habitationsdatum: 6.11.2001

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. W. Dudenhausen

Meiner Frau Natalie-Viviane

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>Seite</b>
0. Häufig verwendete Abkürzungen und Einheiten	6
1. Einleitung	8
1.1 Begriff und Bedeutung des akuten Koronarsyndroms	8
1.2 Die Notwendigkeit einer Risikostratifizierung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom	12
1.3 Der Stellenwert biochemischer Marker bei der Diagnosestellung und Risikostratifizierung des akuten Koronarsyndroms	12
1.4 Die Auswahl geeigneter biochemischer Marker: Kardiale Troponine und Myoglobin versus konventionelle Kreatinkinase-Isoenzym MB (CK-MB)	13
1.5 Die Bedeutung der Freisetzungskinetik der Marker	14
1.6 Der Einfluß spezieller physiologischer und pathophysiologischer sowie klinischer Bedingungen auf die Aussagekraft der biochemischen Marker	15
1.7 Fragestellungen	17
1.7.1 Die klinische Anwendung biochemischer Marker bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom: Welche(n) Marker wann und wie oft bestimmen?	17
1.7.2 Kardiale Troponine unter besonderen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen: Welche Bedeutung haben erhöhte Troponinwerte bei gesunden Probanden und kardial asymptomatischen Patienten mit Niereninsuffizienz?	18
1.7.3 Tierexperimentelle Evaluierung passagerer Ischämie: Erhöhung kardialer Troponine im Plasma bei reversibler Myokardschädigung?	18

2.	Patienten und Methoden	19
2.1	Charakterisierung der Patienten und Probanden, Ein- und Ausschlußkriterien	19
2.1.1	Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom	19
2.1.2	Untersuchungen an Gesunden	27
2.1.3	Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz	28
2.2	Studienprotokolle	31
2.2.1	Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom	31
2.2.2	Untersuchungen an Gesunden	35
2.2.3	Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz	35
2.2.4	Tierexperimentelle Untersuchungen	36
2.3	Analytische Methoden	37
2.3.1	Kardiale Marker	37
2.3.2	Analyse von Myokard-Gewebeproben	43
2.4	Statistik	45
3.	Ergebnisse	47
3.1	Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom	47
3.2	Untersuchungen an Gesunden	66
3.3	Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz	70
3.4	Tierexperimentelle Ergebnisse	74
4.	Diskussion	87
4.1	Diskussion der Methoden	87
4.2	Diskussion der Ergebnisse	90
4.2.1	Die klinische Anwendung der biochemischen Marker bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom	90

4.2.1.1	Frühdiagnostik des akuten Myokardinfarkts	91
4.2.1.2	Risikostratifizierung beim akuten Koronarsyndrom	94
4.2.1.3	Einfluß der Troponinfreisetzung als Komplex	97
4.2.2	Kardiale Troponine unter besonderen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen	99
4.2.2.1	Kardiale Troponine unter körperlicher Leistung gesunder Probanden	99
4.2.2.2	Kardiale Troponine bei Patienten mit Niereninsuffizienz	103
4.2.3	Tierexperimentelle Evaluierung passagerer Ischämie: Erhöhung kardialer Troponine im Plasma bei reversibler Myokardschädigung?	105
4.2.4	Der Einsatz biochemischer Marker in der diagnostischen und prognostischen Einschätzung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom: Ein Algorithmus zur klinischen Anwendung	108
5.	Zusammenfassung und Beantwortung der Fragestellungen	112
6.	Literatur	114
7.	Danksagung	132

## **0. Häufig verwendete Abkürzungen und Einheiten**

ACS, akutes Koronarsyndrom

ACVB, aortokoronarer Venenbypass

AMI, akuter Myokardinfarkt

AP, Angina pectoris

CI, Konfidenzintervall

CK, Kreatinkinase

CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB, kinetisch bestimmt

CK-MB-Masse, Kreatinkinase-Isoenzym MB, mit Immunoassay bestimmt

EKG, Elektrokardiogramm

ESRD, end stage renal disease/dialysepflichtige, chronische Niereninsuffizienz

HD, Hämodialyse

HE, Hämatoxylin-Eosin

LAD, left anterior descending/Ramus interventricularis anterior

LV, linker Ventrikel, linksventrikulär

LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion

MMD, minor myocardial damage

MYO, Myoglobin

mRNA, messenger ribonucleic acid

NYHA, New York Heart Association

PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie

pre-ESRD, pre-end stage renal disease/chronische Niereninsuffizienz ohne Dialysetherapie

ROC, receiver operating characteristics

RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction

RV, rechter Ventrikel, rechtsventrikulär

TnI, kardiales Troponin I

TnI-O, Opus<sup>®</sup>plus-Troponin I

TnI-S, Stratus<sup>®</sup>II-Troponin I

TnT, kardiales Troponin T

WHO, World Health Organization

Es werden überwiegend die in der klinischen Praxis in Deutschland gebräuchlichen konventionellen Einheiten verwendet.

## **1. Einleitung**

### **1.1 Begriff und Bedeutung des akuten Koronarsyndroms**

Die Atherosklerose im allgemeinen und der akute Myokardinfarkt (AMI) im besonderen gehören zu den häufigsten Todesursachen in Westeuropa<sup>1</sup>. Die Letalität des AMI liegt heute bei 51% innerhalb der ersten 24 Stunden. Dabei versterben bis zu 60% der Patienten vor Erreichen der Klinik<sup>2</sup>. Diese Daten wurden aus dem WHO-MONICA-Projekt (World Health Organization-Monitoring of Trends and Determinants of Cardiovascular Disease) ermittelt, das weiterhin eine Krankenhausletalität von 30% innerhalb der ersten 24 Stunden sowie von insgesamt 40% innerhalb der ersten 28 Tage belegt. Innerhalb der großen randomisierten Studien zur Therapie des AMI mit intravenöser Fibrinolysetherapie oder akuter perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) liegt die Letalität in diesen selektionierten Patientenkollektiven bei minimal 6,2%<sup>3</sup>. Diese Zahlen sprechen für die Bedeutung kardiovaskulärer Forschung im Hinblick auf verbesserte Strategien der Diagnosestellung und Therapie des AMI.

Neben dem akuten Myokardinfarkt, der nach WHO-Kriterien<sup>4; 5</sup> definiert ist als akutes, länger als 20 Minuten andauerndes Brustschmerzereignis, verbunden mit ST-Streckenhebungen und/oder einer Erhöhung myokardialer Enzyme, wurde der Begriff der instabilen Angina pectoris (AP) geprägt. Hierunter wird eine Reihe klinisch definierter Angina pectoris-Syndrome verstanden, die 1989 von Eugene Braunwald<sup>6</sup> in einer seither weitgehend weltweit akzeptierten Klassifikation Niederschlag fanden (siehe Tabelle 1).



**Tabelle 1.** Klassifikation der instabilen Angina pectoris (AP) nach Braunwald<sup>6</sup>

SCHWEREGRAD	
Klasse I	<b>Neu aufgetretene, schwere oder zunehmende Angina pectoris</b>  Patienten mit AP seit weniger als zwei Monaten, schwere oder häufige Symptomatik (drei Episoden oder mehr pro Tag) oder Patienten mit deutlicher Zunahme der AP-Symptome und Auslösung dieser Beschwerden durch sehr geringe Belastung; keine Ruhebeschwerden in den letzten zwei Monaten
Klasse II	<b>Subakute Ruhe-Angina pectoris</b>  Patienten mit einer oder mehreren Episoden von Ruhe-AP im letzten Monat, aber nicht in den letzten 48 Stunden
Klasse III	<b>Akute Ruhe-Angina pectoris</b>  Patienten mit einer oder mehreren Episoden von Ruhe-AP innerhalb der letzten 48 Stunden
KLINISCHE UMSTÄNDE	
Klasse A	<b>Sekundäre instabile Angina pectoris</b>  Patienten mit einer klar definierten extrakardialen Ursache der Verstärkung ihrer kardialen Ischämie, z. B. Anämie, Infektion, Fieber, Hypotonie, Tachyarrhythmie, Thyreotoxikose, Hypoxie bei Ateminsuffizienz
Klasse B	<b>Primäre instabile Angina pectoris</b>
Klasse C	<b>Postinfarzielle instabile Angina pectoris</b>  Patienten mit instabiler AP innerhalb von zwei Wochen nach einem dokumentierten Myokardinfarkt
INTENSITÄT DER THERAPIE (unter der die instabile AP auftritt)	
Grad 1	Keine oder minimale Therapie
Grad 2	Auftreten der Symptome unter Standardtherapie der stabilen AP (konventionelle Dosis oraler $\beta$ -Blocker, Nitrate, Calciumantagonisten)
Grad 3	Auftreten der Symptome trotz maximaler oraler Therapie mit allen drei Standardsubstanzen (siehe Grad 2), einschließlich intravenöser Nitrattherapie
Klasse IIIB wird neuerdings in Troponin-positiv/-negativ unterteilt (siehe unten).	

Erst kürzlich wurde dieses Schema von Braunwald und Hamm<sup>7</sup> nach klinischen Studienergebnissen zu den kardialen Troponinen erweitert, wobei auch bereits publizierte Ergebnisse der vorliegenden Arbeit Berücksichtigung fanden<sup>8; 9</sup>. Die instabile Angina pectoris des Schweregrades IIIB wird jetzt unterteilt in Patienten mit und ohne Erhöhung eines kardialen Troponins. Patienten, die per definitionem keinen Infarkt nach WHO-Kriterien bieten, jedoch ein erhöhtes kardiales Troponin aufweisen, erhalten die Diagnose „minor myocardial damage“ (MMD). Diese Erweiterung des Schemas ergänzt eine therapeutische Implikation, die in der alten Form noch nicht enthalten war. Vielmehr hatten Braunwald et al. 1994<sup>10</sup> Richtlinien der „Agency for Health Care Policy and Research“ (AHCPR) veröffentlicht, die den Kenntnisstand zur Diagnosestellung und Therapie der instabilen Angina pectoris zusammenfassen. Auf der Basis der klinischen Präsentation und des Elektrokardiogramms (EKG) werden die Patienten in drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Wahrscheinlichkeit einer wesentlichen koronaren Herzerkrankung eingeteilt. Patienten mit niedriger Wahrscheinlichkeit können ambulant behandelt werden, während die anderen intensiver medizinischer Therapie in einer entsprechenden stationären Einrichtung bedürfen<sup>10</sup>. Kürzlich wurden von Braunwald et al. die therapeutischen Richtlinien von 1994 um Empfehlungen zum Einsatz der Glykoprotein (GP) IIb/IIIa-Antagonisten abciximab, Eptifibatide und Tirofiban sowie des niedermolekularen Heparins Enoxaparin ergänzt<sup>11</sup>. Hierbei wird erneut auf die prognostische Bedeutung der Braunwald-Klassifikation<sup>7</sup> (siehe Tabelle 1) hingewiesen, die im wesentlichen allerdings auf die schwer symptomatischen Patienten der Klasse III bzw. Patienten nach Myokardinfarkt (Klasse C) beschränkt ist<sup>11</sup>. Damit wird deutlich, daß eine klinische Einschätzung und Klassifikation von Patienten mit instabiler Angina pectoris bereits schwer symptomatische Patienten als solche mit hohem Risiko zu identifizieren vermag. Andererseits bleibt eine große Gruppe von Patienten mit geringerer Symptomatik zurück, in der eine Risikostratifizierung als Grundlage weiterer Therapieentscheidungen auf der Basis klinischer Informationen allein nicht möglich ist.

Die wesentliche neue Erkenntnis der klinischen Troponin-Forschung ist nun, daß eine Reihe von Patienten mit instabiler Angina pectoris bei variabler klinischer Symptomatik und erhöhtem Troponin, die von der klassischen WHO-Definition des AMI nicht erfaßt werden, dennoch eine Prognose haben, welche so ungünstig ist wie die des AMI. Aufgrund der Tatsache, daß beim ersten Kontakt des behandelnden

Arztes mit dem Angina pectoris-Patienten die Diagnose instabile Angina oder AMI häufig nicht eindeutig zu stellen und der Schweregrad einer instabilen Angina letztlich erst aus dem Troponin-Test definitiv abzuleiten ist, faßt man heute instabile AP und AMI als „akutes Koronarsyndrom“ (ACS) zusammen. Dies trägt weiterhin der Pathophysiologie Rechnung, daß es bei myokardialer Ischämie zu einer kontinuierlichen Zunahme der Myokardschädigung kommt und die instabile Angina pectoris somit kontinuierlich mit steigendem Risiko schwerer klinischer Ereignisse in den AMI nach WHO-Kriterien<sup>4; 5</sup> übergeht. In jüngster Zeit wurde aus diesem Grunde eine Revision der Definition des AMI vorgeschlagen, die im wesentlichen besagt, daß bei Patienten mit typischer klinischer Symptomatik im Sinne eines ischämischen Ereignisses und Erhöhung eines kardialen Troponins ein AMI vorliegt<sup>12</sup>. In einem aktuellen Editorial wird jedoch kritisch angemerkt, daß diese neue Definition des AMI nur dann gelten kann, wenn das verwendete Testsystem für kardiales Troponin T oder I eine ausreichende analytische Qualität aufweist und präanalytische wie auch analytische Randbedingungen beachtet werden<sup>13</sup>. Weiterhin wird gefordert, daß für jedes Troponin-Testsystem in prospektiven klinischen Studien, die „peer-reviewed“ publiziert werden, der diagnostische und prognostische Nutzen gezeigt wird. Der Hintergrund dieser Forderung ist, daß die verschiedenen Testsysteme für kardiales Troponin I nicht standardisiert sind und aufgrund der besonderen Freisetzungskinetik und Degradation im Blut sehr unterschiedliche Proteinkonzentrationen gemessen werden. Die Bestimmung von kardialem Troponin T ist in dieser Hinsicht unproblematisch, weil nur ein Testsystem angeboten wird.

Neben dieser Kritik an der analytischen Grundlage der neuen AMI-Definition sind weitere inhaltliche Punkte anzuführen. Die genaue Bedeutung von Troponin-Erhöhungen insbesondere unter speziellen klinischen Umständen wie atypischer Symptomatik oder begleitender Niereninsuffizienz bzw. Myopathien ist noch unklar<sup>14-16</sup>. Insbesondere bestehen Kontroversen zur Frage, ob die Erhöhung kardialer Troponine im Blut tatsächlich immer gleichbedeutend mit Myokardzelluntergang ist oder ob es eine kontinuierliche Freisetzung aus dem myokardialen Ischämiebezirk gibt, also auch Troponinerhöhungen bei reversibler Ischämie möglich sind<sup>13; 14; 17</sup>. Obwohl möglicherweise für die klinische Anwendung die Quelle und Pathophysiologie von Troponin-Erhöhungen im Blut von Patienten mit ACS unbedeutend ist, da die prognostische Bedeutung in den allermeisten Fällen gegeben ist<sup>13</sup>, scheint es doch verfrüht, bei jedem symptomatischen Patienten mit

Troponinerhöhung die Diagnose eines AMI zu stellen, wenn nicht sicher von einer Myokardnekrose auszugehen ist.

Aufgrund dieser Überlegungen wird in der vorliegenden Arbeit vom akuten Koronarsyndrom ausgegangen, das nach biochemischen Kriterien, wie oben dargestellt, weiter differenziert werden kann.

## **1.2 Die Notwendigkeit einer Risikostratifizierung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom**

Eine Risikostratifizierung dient dem Auffinden von Patienten mit der schlechteren Prognose, um ihnen eine intensivere Diagnostik und Therapie mit dem Ziel eines möglichst günstigen Verlaufs zukommen lassen zu können. Ein weiterer Aspekt ist der sinnvolle und ökonomische Einsatz der verfügbaren Ressourcen im Sinne des Vermeidens überflüssiger teurer Diagnostik und Therapie mit eventuell vermeidbaren unerwünschten Wirkungen. Eine Risikostratifizierung sollte demnach effektive Behandlungsverfahren nach sich ziehen, die beim akuten Koronarsyndrom mit den perkutanen Koronarinterventionen und den neueren medikamentösen Möglichkeiten, z. B. der GPIIb/IIIa-Inhibition, gegeben sind. Aufgrund der oben betonten epidemiologischen Bedeutung des ACS in Westeuropa sind eine schnelle Diagnosestellung sowie eine individuelle Einschätzung der Prognose für die weitere Therapieplanung und auch das Ressourcenmanagement notwendig.

## **1.3 Der Stellenwert biochemischer Marker bei der Diagnosestellung und Risikostratifizierung des akuten Koronarsyndroms**

Bereits seit längerer Zeit werden Variablen wie die linksventrikuläre Hypertrophie, die linksventrikuläre systolische Funktion u. a.<sup>18</sup> zur Einschätzung des Risikos von Infarktpatienten verwendet. Ein wichtiger Baustein der postinfarziellen Diagnostik sind Streß-Verfahren zur Risikostratifizierung. Aufgrund möglicherweise ernsthafter Komplikationen in der Akutphase stehen diese Verfahren jedoch unmittelbar periinterventionell bzw. bei der schweren instabilen Angina pectoris mit drohendem Myokardinfarkt nur sehr eingeschränkt zur Verfügung. Infolgedessen kommt den biochemischen Markern als Mittel der Risikostratifizierung des ACS eine besonders wichtige Bedeutung in Ergänzung zur klinischen Einschätzung der Patienten zu.

Neben den oben (siehe Kapitel 1.1) beschriebenen Einteilungen von Braunwald, welche bereits Troponin-Werte mit einbezieht<sup>7</sup>, und der AHCPR<sup>10</sup> sind weitere klinische Scores publiziert worden. Für Patienten mit AMI hat nach wie vor die klassische Killip-Klassifikation<sup>19</sup> Bedeutung, bei der AMI-Patienten in 4 Kategorien von der Herzinsuffizienz bis zum kardiogenen Schock nach klinischen Kriterien eingeteilt werden. Dieser einfache Score wird aktuell auch als Bestandteil komplexerer Einteilungen verwendet und wurde beispielsweise von Becker et al.<sup>20</sup> als ein unabhängiger Prädiktor einer ungünstigen Prognose von AMI-Patienten bestätigt. Weitere Studien, die Patienten mit akutem Brustschmerz<sup>21</sup> oder akutem Koronarsyndrom<sup>22</sup> untersuchten, konnten ebenfalls die prognostische Bedeutung klinischer Variablen wie Alter, kardiovaskuläre Vorerkrankungen, Hypotonie und Schock, Herzfrequenz und EKG-Veränderungen nachweisen. Allerdings sind klinische Variablen, einschließlich des EKG, nicht immer ausreichend, Patienten mit drohendem AMI zu identifizieren. Lee et al.<sup>23</sup> fanden in einer Multicenter-Studie, daß 4% der Patienten mit AMI fälschlicherweise aus der Notaufnahme entlassen wurden und anschließend eine höhere Letalität aufwiesen als die korrekt diagnostizierten und therapierten Patienten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen McCarthy et al.<sup>24</sup>, in deren Studie gezeigt wurde, daß 1,9% der Patienten mit AMI irrtümlicherweise nicht stationär aufgenommen werden. Es ist davon auszugehen, daß ein noch höherer Anteil von Patienten mit MMD unerkannt und ohne adäquate Therapie nach Hause geschickt wird, was allerdings in Studien schwierig zu quantifizieren ist, da retrospektive Troponin-Analysen aufgrund fehlenden Materials in der Regel nicht möglich sind.

Aus diesen genannten Gründen kann festgestellt werden, daß eine ergänzende biochemische Risikostratifizierung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom sinnvoll und notwendig ist.

#### **1.4 Die Auswahl geeigneter biochemischer Marker: Kardiale Troponine und Myoglobin versus konventionelle Kreatinkinase-Isoenzym MB (CK-MB)**

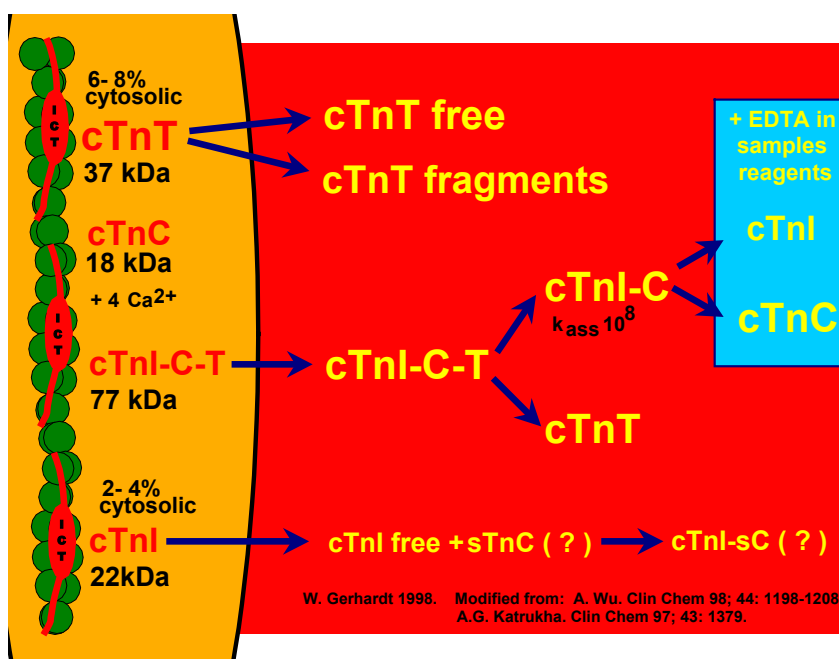
Eine Vielzahl biochemischer Marker wurde in den vergangenen Jahrzehnten zur Diagnostik und prognostischen Einschätzung des akuten Koronarsyndroms evaluiert<sup>25</sup>. Die kardialen Troponine haben sich wegen ihrer absoluten analytischen Spezifität als besonders interessant erwiesen und sind bereits wesentlicher

Bestandteil der Diagnostik des akuten Koronarsyndroms geworden<sup>12; 13</sup>. Dies basiert auf zahlreichen klinischen Studien: Katus et al. hatten zunächst das kardiale Troponin T als Marker myokardialer Schädigung eingeführt<sup>26-28</sup>. Hamm et al. erkannten die prognostische Bedeutung des Troponin T bei Patienten mit schwerer instabiler Angina pectoris ohne manifesten Myokardinfarkt<sup>29</sup>. Auf der Basis dieser Arbeiten wurde in zahlreichen klinischen Studien die prognostische Bedeutung der kardialen Troponine T und I beim akuten Koronarsyndrom belegt<sup>30-36</sup>. Die Verwendung der CK-MB-/CK-Aktivität als biochemischer Marker des AMI wird sogar von einigen definitiv nicht mehr empfohlen<sup>13</sup>.

Das Myoglobin und die CK-MB-Masse sind dem Troponin allerdings aufgrund der schnelleren Freisetzungskinetik als Frühmarker überlegen<sup>25</sup> und daher ebenfalls ein wesentlicher Bestandteil der Diagnostik des akuten Koronarsyndroms<sup>37</sup>.

### 1.5 Die Bedeutung der Freisetzungskinetik der Marker

Die Freisetzung der kardialen Troponine beim akuten Koronarsyndrom wurde von Wu et al. und Katrukha et al. evaluiert<sup>38; 39</sup>. Im wesentlichen ist herauszustellen, daß quantitativ führend die Freisetzung eines ternären I-C-T-Komplexes ist, der im Blut zu T und I-C gespalten wird. Freies Troponin I kommt nur in geringer Konzentration vor. Die Abbildung 1 faßt diese Phänomene zusammen.



**Abbildung 1.** Freisetzung der kardialen Troponine aus der ischämischen Herzmuskelzelle. Abbildung mit Erlaubnis modifiziert nach W. Gerhardt.

TnT, kardiales Troponin T; cTnC, kardiales Troponin C; cTnI, kardiales Troponin I; sTnC, Skelettmuskel-TnC; kDa, kilo-Dalton;  $k_{ass}$ , Assoziationskonstante.

Komplizierend kommt hinzu, daß Troponin I weiterhin phosphoryliert wird und somit bestimmte Bindungsstellen für diagnostische Antikörper nicht mehr exponiert sind. Darüber hinaus wird wenigstens Troponin I in der peripheren Zirkulation degradiert<sup>14; 40; 41</sup>. Damit erklärt sich zwanglos, warum verschiedene Troponin I-Testsysteme unter Verwendung unterschiedlicher Antikörper bei denselben Patienten zu anderen Ergebnissen kommen, die durchaus um eine Zehnerpotenz voneinander abweichen können. Die unterschiedliche Affinität der Testsysteme zu dem früh freigesetzten ternären I-C-T-Komplex beeinflusst möglicherweise ebenfalls die diagnostische und prognostische Wertigkeit.

## **1.6 Der Einfluß spezieller physiologischer und pathophysiologischer sowie klinischer Bedingungen auf die Aussagekraft der biochemischen Marker**

Die Entdeckung des prognostischen Nutzens von Troponin T durch Hamm et al.<sup>29</sup> und zahlreiche weitere Studien<sup>30-32; 42</sup> basierte auf Untersuchungen bei Patienten mit schwerer instabiler Angina pectoris (Braunwald Klasse III; siehe Tabelle 1) oder akutem Myokardinfarkt<sup>43</sup>. Die Bedeutung von Troponin T-Erhöhungen bei Patienten mit leichter instabiler oder atypischer Angina pectoris wurde erstmals von uns systematisch untersucht<sup>8</sup>.

Extreme körperliche Leistung, wie beispielsweise ein Marathonlauf, führt typischerweise zum Anstieg zytosolischer myozytärer Marker wie des Myoglobins oder der CK. Nur wenige Studien haben bisher kardiale Troponine unter extremer körperlicher Leistung untersucht<sup>44-55</sup>. Die Ergebnisse dieser bisherigen Untersuchungen sind in der Tabelle 25 (siehe Kapitel Diskussion) zusammengefaßt. Die Interpretation der von einigen gefundenen geringen Erhöhungen kardialer Troponine ist schwierig. Letztlich bleibt es bislang unklar, ob auch Gesunde geringe „physiologische“ Anstiege kardialen Troponins aufweisen können oder ob solche Befunde auf eine kardiale Erkrankung wie beispielsweise eine Myokarditis oder eine

ischämische Herzerkrankung hindeuten. Dies ist auch vor dem Hintergrund interessant, daß körperliche Leistung ein häufiger und typischer Auslöser des akuten Koronarsyndroms ist<sup>56-59</sup>.

Eine große Zahl von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz leidet unter kardiovaskulären Erkrankungen<sup>60</sup>. Weiterhin sind bei diesen Patienten als Folge der Niereninsuffizienz die Werte für CK und Myoglobin oft unspezifisch erhöht<sup>61</sup>. Eine Reihe klinischer Beobachtungen hatte zunächst den Verdacht nahegelegt, daß auch kardiales Troponin T<sup>62-69</sup> mehr als kardiales Troponin I<sup>70; 71</sup> bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz mit und ohne Nierenersatztherapie unspezifisch erhöht sein kann. Aktuelle Untersuchungen bei Patienten mit chronischer Hämodialysetherapie weisen darauf hin, daß Troponin T-Erhöhen in diesem Kollektiv eventuell doch prognostische Bedeutung haben<sup>29; 72-74</sup>. Insgesamt bleibt jedoch die Kontroverse bestehen, welchen Wert die Erhöhung kardialer Troponine bei asymptomatischen Patienten mit Niereninsuffizienz in Hinblick auf ihre Prognose hat<sup>16</sup>.

Im Sinne der in Kapitel 1.1 dargestellten neuen Definition des AMI würde jeder Anstieg und Abfall eines kardialen Troponins verbunden mit ischämischer Symptomatik den Infarkt definieren. Hintergrund dieser Definition ist die Überzeugung, daß ein ischämisch bedingter Anstieg eines kardialen Troponins immer einen Myokardzelluntergang bedeutet. Dies wird pointiert in dem Editorial von Jaffe et al. zum Ausdruck gebracht<sup>13</sup>. Dort werden hauptsächlich zwei Argumentationslinien verfolgt: Zum einen sei es wahrscheinlich, daß strukturgebundene Proteine des Myokards, welche im Plasma gefunden werden, eine irreversible Myokardzellschädigung anzeigen. Zum anderen hätten Koronarsinusproben bei durch Schrittmacherstimulation erzeugter Ischämie keine Troponin-Erhöhen aufgewiesen<sup>13</sup>.

Dieser Hypothese steht die Auffassung von Wu et al. entgegen, die im Tierversuch an Schweinen sowohl bei irreversibler als auch bei reversibler Ischämie Erhöhen von kardialen Troponin I fanden<sup>75</sup>. Eine ältere tierexperimentelle Arbeit an Affen hatte sogar Erhöhen der CK-MB-/CK-Aktivität ohne nachweisbare Myokardnekrose ergeben<sup>76</sup>. Die Position, nach der Troponin-Erhöhen bei reversibler Ischämie möglich seien, erhält Nahrung durch die oben geschilderten Troponin-Erhöhen bei Gesunden unter körperlicher Leistung und kardial



asymptomatischen Patienten mit Niereninsuffizienz. Sobel und LeWinter betonen zudem in einem aktuellen Editorial, daß es aus verschiedenen Gründen nicht wahrscheinlich sei, daß geringe kardiale Troponin-Erhöhrungen tatsächlich auch Ausdruck einer kleinen myokardialen Nekrose seien<sup>14</sup>. Ein entscheidendes Argument dabei ist, daß nach neueren Erkenntnissen beim akuten Myokardinfarkt nebeneinander Nekrose und Apoptose auftreten, bei der Apoptose jedoch nicht typischerweise Makromoleküle ins Blut abgegeben werden. Somit bleibt die Quelle und Bedeutung geringer kardialer Troponin-Erhöhrungen offen.

## **1.7 Fragestellungen**

Die vorliegende Arbeit hat drei thematische Schwerpunkte mit den folgenden Fragen:

### **1.7.1 Die klinische Anwendung biochemischer Marker bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom: Welche(n) Marker wann und wie oft bestimmen?**

- a) Welchen zusätzlichen Nutzen haben kardiales Troponin, Myoglobin und die CK-MB-Masse gegenüber den konventionellen Markern CK-MB-/CK-Aktivität hinsichtlich der Diagnosesicherung und Risikostratifizierung des akuten Koronarsyndroms? Wie oft sollten diese Marker bei unselektionierten Patienten mit akutem Koronarsyndrom zur sicheren Diagnosestellung und Prognoseeinschätzung bestimmt werden?
- b) Hat das Ausmaß der Affinität eines Troponin I-Testsystems zum früh freigesetzten I-C-T-Komplex einen Einfluß auf die Diagnosestellung und Prognoseeinschätzung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom? Die Hypothese lautet, daß eine höhere Affinität zum früh freigesetzten ternären Troponin-Komplex den Wert des Testsystems hinsichtlich des diagnostischen und prognostischen Nutzens verbessert.
- c) Sollten die kardialen Troponine notwendiger Bestandteil der Risikostratifizierung nicht nur bei der schweren instabilen Angina pectoris, sondern allgemein beim akuten Koronarsyndrom einschließlich der Patienten mit atypischer oder eher milder Angina pectoris-Symptomatik (Braunwald Klasse I) sein?

**1.7.2 Kardiale Troponine unter besonderen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen: Welche Bedeutung haben erhöhte Troponinwerte bei gesunden Probanden und kardial asymptomatischen Patienten mit Niereninsuffizienz?**

- a) Werden die kardialen Troponine unter maximaler körperlicher Leistung Gesunder im Referenzbereich gefunden und sind somit definitiv kardiale Verletzungsmarker ohne physiologische Anstiege?
- b) Gibt es bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz mit oder ohne Dialysetherapie und ohne manifestes akutes Koronarsyndrom Erhöhungen kardialer Troponine, und welche prognostische Aussagekraft haben solche erhöhten Werte?

**1.7.3 Tierexperimentelle Evaluierung passagerer Ischämie: Erhöhung kardialer Troponine im Plasma bei reversibler Myokardschädigung?**

Zeigen kardiale Troponine tatsächlich immer eine irreversible Myokardschädigung an oder können sie bei kurzdauernder Ischämie auch durch eine gestörte Zellmembranintegrität freigesetzt werden und damit bei reversibler Myokardschädigung erhöht sein?

## 2. Patienten und Methoden

### 2.1 Charakterisierung der Patienten und Probanden, Ein- und Ausschlusskriterien

Im folgenden werden die Charakteristika der untersuchten Patienten und Probanden überwiegend tabellarisch zusammengefaßt.

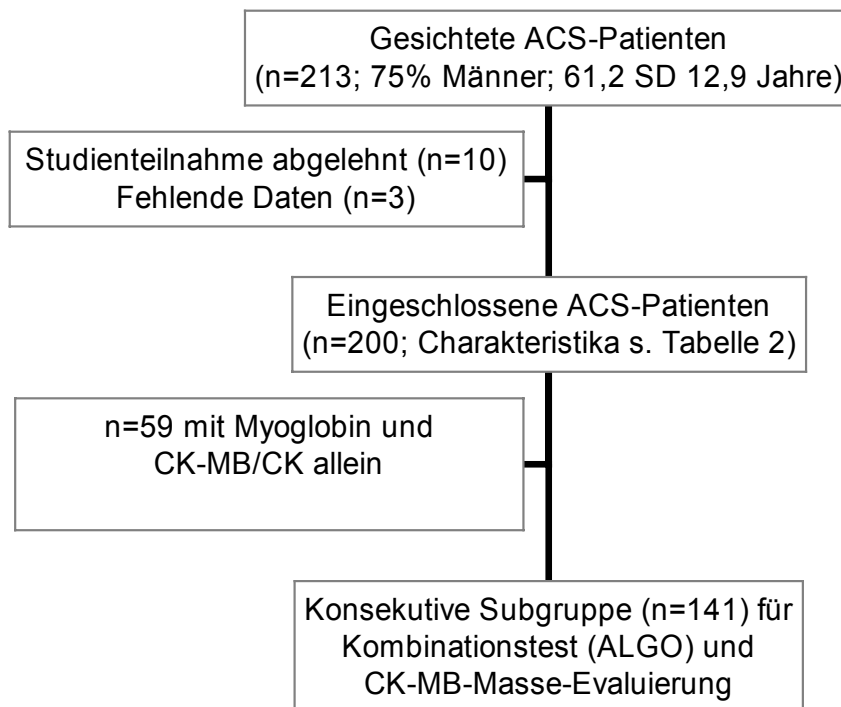
#### 2.1.1 Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom

Es wurden drei Studien an Patienten mit akutem Koronarsyndrom mit Zustimmung der Ethik-Kommission der Charité/Campus Virchow-Klinikum durchgeführt.

Die erste Studie, nachfolgend **Myoglobin Studie** genannt, diente dem Zweck, den klinischen Einsatz der kardialen Marker Troponin, Myoglobin und CK-MB/CK entsprechend den Richtlinien der National Academy of Clinical Biochemistry (NACB, USA) und dem Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) zu validieren. Diese Richtlinien besagen im wesentlichen:

- 1) Die Notwendigkeit eines akzelerierten Protokolls für den Einsatz biochemischer Marker zum “rule in/out” von Patienten mit Brustschmerzen.
- 2) Der Einsatz eines frühen Markers (Myoglobin) und eines definitiven biochemischen Markers (kardiales Troponin) für die Routinediagnostik des akuten Myokardinfarkts.
- 3) Das Protokoll der Blutentnahmen sollte an der Aufnahmezeit in der Klinik orientiert sein, da die Angabe des Symptombeginns oft unzuverlässig und nicht überprüfbar ist.
- 4) Es sollten zwei Schwellenwerte für das kardiale Troponin verwendet werden (für MMD und AMI).
- 5) MMD soll als wesentliche Diagnose etabliert werden.
- 6) Die Bestimmung der CK-MB-Masse sollte durch kardiales Troponin ersetzt werden.
- 7) Die Verwendung von Plasma als Probe der Wahl.

Zur Validierung dieser Richtlinien und Ableitung eines Schemas zur Bestimmung der Marker wurden 213 konsekutive Patienten gesichtet, die mit akutem Koronarsyndrom auf der internistischen Intensivstation aufgenommen wurden. Von diesen Patienten wurden 200 in die Studie eingeschlossen. Ausschlußkriterien waren: Anämie (mit einem Hämoglobinwert  $< 10\text{g/dL}$ ), Endstadium einer chronischen Erkrankung beliebiger Ursache und die Unfähigkeit zum „informed consent“. Die Abbildung 2 zeigt die Patientenselektion im Überblick.



**Abbildung 2.** Patientenselektion der Myoglobin-Studie

ACS, akutes Koronarsyndrom; SD, Standardabweichung; CK, Kreatinkinase; CK-MB, CK-Isoenzym MB; ALGO, Algorithmus, siehe Kapitel Studienprotokolle (2.2.1) und Abbildung 4.

Die kombinierte Testung von Myoglobin und Troponin I wurde nach einem von Gerhardt et al. entwickelten Schema durchgeführt (siehe Studienprotokoll, Kapitel 2.2.1, ALGO<sup>77</sup>). Die klinischen Charakteristika der Patienten sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Eine konsekutive Subgruppe der Patienten erhielt zusätzliche Bestimmungen von kardialen Troponin I (Dade Behring, Stratus<sup>®</sup>II-System) und der CK-MB-Masse (Dade Behring, Opus<sup>®</sup>plus-System). In dieser Subgruppe kam das Schema ALGO zur Anwendung. Die Tabelle 2 zeigt, daß die Patienten der Subgruppe sich statistisch nicht von der Gesamtgruppe der Patienten unterschieden.

**Tabelle 2.** Klinische Charakteristika der 200 Patienten der Myoglobin-Studie

<b>Variable</b>	<b>Alle Patienten (n=200)</b>	<b>Subgruppe ALGO (n=141)</b>
Alter [Jahre]	61,08 SD12,75 (29-90)	61,4 SD13,14 (31-90)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	26,57 (24,21/29,7)	26,73 (24,19/29,32)
Kreatinin [mg/dL] <sup>a</sup>	1,1 (0,9/1,2)	1,1 (0,9/1,3)
Männliches Geschlecht [%]	75 (68-81)	75 (67-82)
Zigarettenrauchen [%]	53 (46-60)	50 (42-53)
Diabetes mellitus [%]	23 (17-29)	20 (14-28)
Hypercholesterinämie <sup>b</sup> [%]	46 (39-54)	42 (34-50)
Arterieller Hypertonus [%]	58 (50-65)	58 (46-63)
Vorbekannte KHK [%]	51 (43-58)	46 (37-55)
Positive Familienanamnese <sup>c</sup> [%]	58 (51-65)	54 (44-62)
Akuter Myokardinfarkt [%]	60 (52-66)	60 (52-68)
Akut-PTCA [%]	34 (28-42)	40 (32-49)
Delay [min]	375 (20-1800)	360 (20-1440)
Thrombolysetherapie [%]	20 (15-27)	20 (13-27)
Delay [min]	120 (30-660)	112,5 (30-300)
ST-Hebungen bei Aufnahme [%]	45 (38-52)	48 (39-57)

Alter als Mittelwert und Standardabweichung (SD), alle anderen quantitativen Variablen als Median und Quartilen (25%/75%) oder Range (Minimum - Maximum); qualitative Variablen in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; MYO, Myoglobin; Tnl, Troponin I; BMI, body mass index; KHK, koronare Herzkrankheit; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie; Delay, Zeit vom Symptombeginn bis zum Start der spezifischen Therapie; <sup>a</sup> normal bis 1,3mg/dL; <sup>b</sup> Cholesterin >200mg/dL; <sup>c</sup> bezüglich koronarer Herzerkrankung.

Die zweite Studie, nachfolgend **Troponin I-Studie** genannt, diente dem Zweck, die klinische Bedeutung der unterschiedlichen biochemischen Charakteristika zweier Troponin I-Testsysteme zu ergründen.

In diese Studie wurden 162 konsekutive Patienten eingeschlossen, die mit einem akuten Koronarsyndrom auf der internistischen Intensivstation aufgenommen wurden. Ausschlußkriterien waren dieselben wie in der Myoglobin-Studie (siehe oben). Tabelle 3 zeigt die klinischen Charakteristika der Patienten insgesamt und nach ihrem Troponin-Status anhand der zu vergleichenden Testsysteme.

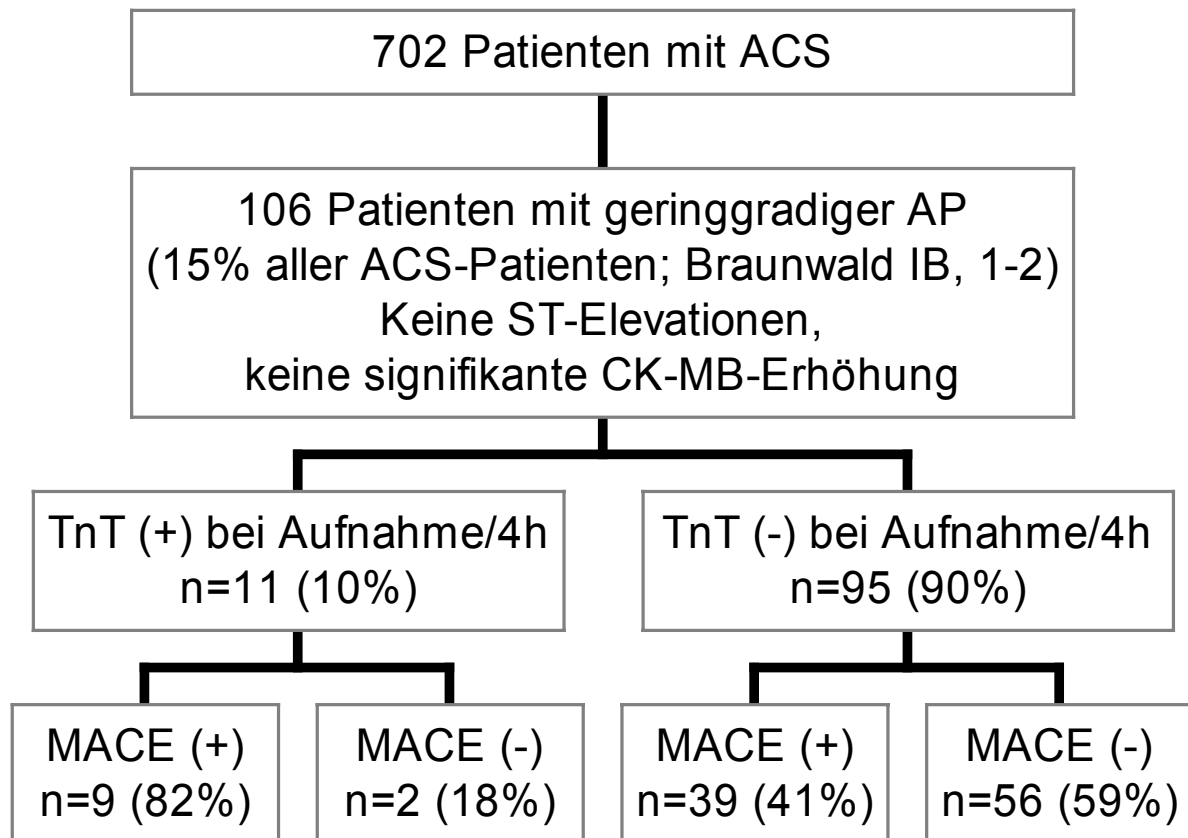
**Tabelle 3.** Klinische Charakteristika der 162 Patienten der Troponin I-Studie insgesamt und nach dem Troponin-Status

Variable	Gesamtgruppe (n=162)	TnI-S (+) bei Aufnahme (n=57)	TnI-S (-) bei Aufnahme (n=105)	TnI-O (+) bei Aufnahme (n=36)	TnI-O (-) bei Aufnahme (n=126)
Alter [Jahre]	61,28 SD11,05	62,42 SD11,78	60,34 SD10,82	64,11 SD11,72	60,34 SD10,80
Männliches Geschlecht [%]	69	70	68	75	69
Diabetes mellitus [%]	17	19	14	14	16
Arterieller Hypertonus [%]	49	42	54	47	50
Zigarettenrauchen [%]	56	51	57	57	55
Hypercholesterinämie <sup>a</sup> [%]	44	44	46	33	47
Vorbekannte KHK [%]	48	46	50	36	51
Früherer AMI [%]	38	26	44*	28	41
Familienanamnese <sup>b</sup> [%]	33	28	37	28	35
Thrombolysetherapie [%]	14	14	13	14	13
Delay [min]	157,5 (60,0/302,5)	290,0 (157,5/547,5)	75,0 (60,0/215,0)	220,0 (160,0/660,0)	97,5 (60,0/302,5)
Akut-PTCA [%]	37	49	31*	47	32
Delay [min]	260,0 (176,3/450,0)	300,0 (172,5/607,5)	240,0 (176,3/420,0)	345,0 (240,0/765,0)	240,0 (172,5/375,0)
Symptombdauer [min]	210,0 (90,0/450,0)	275,0 (120,0/585,0)	180,0 (75,0/392,5) <sup>#</sup>	390,0 (180,0/900,0)	180,0 (70,0/360,0) <sup>#</sup>
Gesicherter AMI [%]	67	97	50*	94	57*
ST-Streckenhebungen [%]	44	16	61*	17	56*

Alter als Mittelwert und Standardabweichung (SD), alle anderen quantitativen Variablen als Median und Quartilen (25%/75%); qualitative Variablen in Prozent; TnI-S (+), Stratus®II-Troponin I  $\geq 1,5\mu\text{g/L}$ , TnI-S (-),  $< 1,5\mu\text{g/L}$ ; TnI-O (+), Opus®-Troponin I  $\geq 1,6\mu\text{g/L}$ , TnI-O (-)  $< 1,6\mu\text{g/L}$  bei Aufnahme; KHK, koronare Herzkrankung; AMI, akuter Myokardinfarkt; Delay, Zeit vom Symptombeginn bis zum Start der spezifischen Therapie; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie; <sup>a</sup> Gesamtcholesterin  $> 200\text{mg/dL}$ ; <sup>b</sup> positiv bezüglich koronarer Herzkrankung; \*  $p < 0,05$  im Chi-Quadrat-Test; <sup>#</sup>  $p < 0,05$  im Wilcoxon-Test versus die korrespondierende positive Gruppe.



Die dritte Studie, im folgenden **Troponin T-Studie** genannt, hatte die Evaluierung von Troponin T bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und ausgeschlossenen AML, jedoch nur geringgradiger oder atypischer Symptomatik zum Gegenstand. Einschlusskriterium war die klinische Verdachtsdiagnose eines akuten Koronarsyndroms. Ausschlusskriterien waren: definitive Zeichen des akuten Myokardinfarkts anhand der WHO-Kriterien, schwere instabile AP nach Braunwald-Kriterien (Klasse II/III; siehe Tabelle 1), offensichtliche extrakardiale Ursache der Beschwerden, Unfähigkeit zum „informed consent“, schwere Infektion oder Tumorerkrankung, symptomatische angeborene Herzfehler und Herzinsuffizienz im Stadium III oder IV der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA). Die Diagnosestellung und die Einteilung in die Braunwald- bzw. NYHA-Klassifikation wurden von einem erfahrenen Facharzt vorgenommen, der nicht an der Studie beteiligt war und die Troponin-Werte der Patienten nicht kannte. Die Patientenselektion erfolgte aus 702 konsekutiven Patienten mit akutem Koronarsyndrom, die in den Jahren 1993 und 1994 auf der kardiologischen Intensivstation zur Aufnahme kamen. Bei 421 (entspricht 60%) dieser Patienten wurde nach WHO-Kriterien ein akuter Myokardinfarkt diagnostiziert. Bei grenzwertigen Veränderungen der Enzyme CK-MB/CK wurden auch die Ergebnisse serieller echokardiographischer Untersuchungen und die Ergebnisse der Koronarangiographie in die Diagnosestellung mit einbezogen. Die Abbildung 3 zeigt die Patientenselektion dieser Studie und die Tabelle 4 die klinischen Charakteristika der Patienten.



**Abbildung 3.** Patientenselektion der Troponin T-Studie

Patientenzahl in Prozent; ACS, akutes Koronarsyndrom; AP, Angina pectoris; CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB; TnT, Troponin T; TnT (+), TnT  $\geq 0,2 \mu\text{g/L}$ ; TnT (-), TnT  $< 0,2 \mu\text{g/L}$ ; MACE, major cardiac events (im Krankenhaus) waren: akuter Myokardinfarkt, Tod, lebensbedrohliche Arrhythmie und Herzinsuffizienz.

**Tabelle 4.** Klinische Charakteristika der 106 Patienten der Troponin T-Studie

Variable	TnT (+) (n = 11)	TnT (-) (n = 95)
Alter [Jahre]	61 (43-72)	57 (21-82)
Männliches Geschlecht	64 (31-89)	70 (59-79)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28,0 (22,52-36,13)	27,6 (18,1-37,28)
Zigarettenrauchen	70 (35-93)	66 (55-76)
Arterieller Hypertonus	64 (31-89)	58 (47-69)
Diabetes mellitus	33 (8-70)	16 (9-26)
Positive Familienanamnese <sup>a</sup>	20 (3-56)	42 (32-53)
EKG-Veränderungen <sup>b</sup>	82 (48-98)	65 (54-75)
Braunwald Score	IB1-2	IB1-2
Vorbekannte KHK	36 (11-69)	61 (50-71)

Quantitative Variablen als Median und Range; qualitative Variablen in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; TnT (+), Troponin T  $\geq 0,2 \mu\text{g/L}$ , TnT (-),  $< 0,2 \mu\text{g/L}$ ; BMI, body mass index; KHK, koronare Herzerkrankung; <sup>a</sup> bezüglich koronarer Herzerkrankung; <sup>b</sup> ST/T-Veränderungen ohne ST-Hebungen.

### 2.1.2 Untersuchungen an Gesunden

Dreißig gesunde Sportler (Triathleten) wurden vor und nach einem Triathlon-Wettkampf untersucht. Sechszwanzig Teilnehmer beendeten den Wettkampf, von diesen wurden 15 Freiwillige über weitere zwei Stunden nachuntersucht. In dieser Gruppe wurden Troponin I und T sowie Myoglobin bestimmt. Keiner der Probanden nahm regelmäßig Medikamente ein; 11 Teilnehmer konsumierten Magnesium, 12 Teilnehmer Vitamin E und 12 Teilnehmer weitere Vitaminpräparate. 7 der Teilnehmer litten an Allergien, drei von ihnen nahmen gelegentlich, jedoch nicht in den letzten 7 Tagen vor der Untersuchung, Allergiemedikamente ein.

**Tabelle 5.** Anthropometrische Charakteristika der 15 gesunden männlichen Teilnehmer am Triathlon-Wettkampf

Variable	Median (Quartilen)	Range
Alter [Jahre]	28 SD5,3	20 - 39
Training [Jahre]	5 (4/6)	2 - 8
Training [Tage/Woche] <sup>a</sup>	6 (6/7)	4 - 7
Herzfrequenz [1/min] <sup>b</sup>	52 (52/60)	48 - 76
Body-mass-index [kg/m <sup>2</sup> ]	23,0 (20,8/23,9)	20,1 - 25,7
RRsys [mmHg]	130 (120/135)	110 - 160
RRdia [mmHg]	90 (85/90)	80 - 95

SD, Standardabweichung; RRsys, systolischer, RRdia, diastolischer Blutdruck in Ruhe; <sup>a</sup> Wettkampfsaison; <sup>b</sup> in Ruhe.

### 2.1.3 Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz

Es wurden 40 konsekutive stationäre Patienten mit Plasma-Kreatininwerten über 1,5mg/dL (pre end stage renal disease, pre-ESRD; n = 20) bzw. chronischer Hämodialysetherapie seit mindestens einem Monat (ESRD; n = 20) in die Studie eingeschlossen. Ausschlusskriterien waren: schwere Anämie (Hämoglobin unter 8,0g/dL), Alter über 80 Jahre, deutlich reduzierter Allgemeinzustand, bekanntes malignes Tumorleiden, akutes Nierenversagen, Angina pectoris während der letzten 14 Tage oder ein akutes Koronarsyndrom in den letzten 4 Wochen vor Einschluß. Alle Patienten erklärten sich vor Studienbeginn im Sinne eines „informed consent“ mit der Teilnahme einverstanden. Die Tabelle 6 zeigt die klinischen Charakteristika der Patienten und die Tabelle 7 die Begleiterkrankungen und die nephrologischen Diagnosen. Die Hämodialysetherapie wurde von dem zuständigen Arzt der Dialyseeinheit unabhängig von der Studie gestaltet. Die verwendeten Dialysemembranen wurden dokumentiert (siehe Abschnitt Ergebnisse).

**Tabelle 6.** Klinische Charakteristika der 40 Patienten mit Niereninsuffizienz

Variable	ESRD	Pre-ESRD
<b>Alter [Jahre]</b>	51,5 (28-75)	63,5 (27-78)**
Geschlecht (m : w)	10 : 10	12 : 8
Body-mass-index [kg/m <sup>2</sup> ]	21,48 (15,79-33,36)	25,51 (19,37-40,35)*
ESRD-Dauer [Jahre]	2,5 (0,1-21,9)	--
Kreatinin-Clearance [mL/min]	--	13,4 (3,5-68,3)
Natrium [mmol/L]	138 (131-143)	138 (130-145)
Kalium [mmol/L]	5,0 (3,5-7,2)	4,3 (3,3-5,2)**
Kreatinin [mg/dL]	7,7 (2,9-13,8)	2,8 (1,5-7,6)***
Aufnahme-Diagnosen		
Shunt-Chirurgie	40 (19-64)	5 (0-25)
Parathyroidektomie	25 (9-49)	0 (0-17) <sup>+</sup>
Allgemeinchirurgie	15 (3-38)	1 (1-32)
PA-PTA	5 (0-25)	1 (1-32)
Progression Niereninsuffizienz	der 0 (0-17) <sup>+</sup>	35(15-59)
Arterieller Hypertonus <sup>a</sup>	0 (0-17) <sup>+</sup>	20 (6-44)
Diabetes mellitus <sup>a</sup>	0 (0-17) <sup>+</sup>	15 (3-38)
Pneumonie	10 (1-32)	0 (0-17) <sup>+</sup>
Akute Pankreatitis	5 (0-25)	5 (0-25)

Quantitative Variablen als Median und Range; qualitative Variablen in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; ESRD, end stage renal disease; PA-PTA, perkutane transluminale Angioplastie peripherer Arterien; <sup>a</sup> akut aggraviert; \* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001 versus ESRD (Werte vor Hämodialyse); <sup>+</sup> einseitiges 97,5%-Konfidenz-Intervall.

**Tabelle 7.** Begleiterkrankungen und nephrologische Diagnosen der 40 Patienten mit Niereninsuffizienz

Variable	ESRD	Pre-ESRD
<b>Angina pectoris:</b>		
Keine	75 (51-81)	30 (12-54)
Stabile	25 (9-49)	70 (48-88)
<b>Koronare Herzerkrankung</b>	30 (12-54)	80 (56-84)
Früherer Myokardinfarkt	15 (3-38)	45 (23-68)
Arterieller Hypertonus	80 (56-94)	80 (56-94)
Diabetes mellitus	65 (41-85)	50 (27-73)
Hyperlipoproteinämie <sup>a</sup>	50 (27-73)	55 (32-77)
Hyperfibrinogenämie <sup>b</sup>	25 (9-49)	45 (23-68)
Hyperurikämie <sup>c</sup>	10 (1-32)	30 (12-54)
Positive Familienanamnese <sup>d</sup>	50 (27-73)	30 (12-54)
Zigarettenrauchen	55 (32-77)	60 (36-81)
Mediane Packungsjahre [Range]	15 [0-240]	20 [0-50]
<b>Nephrologische Diagnosen</b>		
Diabetische Nephropathie	55 (32-77)	50 (27-73)
Goodpasture-Syndrom	10 (1-32)	0 (0-17) <sup>+</sup>
IgA-Nephritis	5 (0-25)	0 (0-17) <sup>+</sup>
Poststreptokokken-GN	5 (0-25)	5 (0-25)
Chronische GN	5 (0-25)	0 (0-17) <sup>+</sup>
Alport-Syndrom	5 (0-25)	0 (0-17) <sup>+</sup>
PKD	5(0-25)	10 (1-32)
Nierenarterienstenose	0 (0-17) <sup>+</sup>	15 (3-38)
Analgetika-Nephropathie	5 (0-25)	5 (0-25)
Hypertensive Nephrosklerose	5 (0-25)	15 (3-38)

Angaben in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; ESRD, end stage renal disease; GN, Glomerulonephritis; PKD, polyzystische Nierendegeneration; <sup>a</sup> Gesamtcholesterin > 200mg/dL; <sup>b</sup> Fibrinogen > 300mg/dL; <sup>c</sup> Harnsäure > 10mg/dL; <sup>d</sup> bezüglich koronarer Herzerkrankung; <sup>+</sup> einseitiges 97,5%-Konfidenz-Intervall.

## 2.2 Studienprotokolle

### 2.2.1 Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom

Im folgenden Abschnitt werden die einzelnen Studienprotokolle der oben beschriebenen Studien an Patienten mit akutem Koronarsyndrom dargestellt. Die diagnostischen Klassifikationskriterien gelten für alle drei Studien gleichermaßen.

#### Diagnostische Klassifikation und Therapie in allen drei Studien

Die definitive Diagnose eines akuten Myokardinfarkts wurde auf der Basis der WHO-Kriterien<sup>4; 5</sup> retrospektiv von erfahrenen Ärzten der internistischen Intensivstation, die nicht an der Studie beteiligt waren, gestellt. Als primäres biochemisches Kriterium wurde die relative CK-MB-/CK-Aktivität mit einem Cutoff von 6% verwendet. Mindestens zwei der drei folgenden Kriterien mußten erfüllt sein:

- a) typische nitrorefraktäre AP für mehr 20 Minuten Dauer,
- b) CK-MB-/CK-Erhöhung (siehe oben),
- c) ST-Elevation ( $\geq 0,1\text{mV}$  in I, II, III, aVL, aVF oder  $\geq 0,2\text{mV}$  in V1-V6) in mindestens zwei gleichsinnigen Ableitungen.

In wenigen Fällen mit grenzwertigen CK-MB-/CK-Befunden wurde die Diagnose AMI durch Ergebnisse der Koronarangiographie (frisch verschlossenes Gefäß, Thromben) oder echokardiographisch durch in mindestens zwei aufeinander folgenden Untersuchungen festgestellte und neu aufgetretene segmentale Wandbewegungsstörungen gesichert. Patienten mit instabiler Angina pectoris wurden nach Braunwald-Kriterien eingeteilt (siehe Tabelle 1).

Das therapeutische Vorgehen bei den Patienten, einschließlich der Einleitung einer Thrombolysetherapie oder Akut-PTCA, oblag dem zuständigen verantwortlichen Arzt der Intensivstation, der nicht an der Studie beteiligt war.

Alle Patienten erhielten unfractioniertes Heparin intravenös mit dem Ziel einer aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) von 60-85s und initial 500mg Acetylsalizylsäure intravenös. Die medikamentöse Begleittherapie oblag ebenfalls

dem zuständigen, an der Studie unbeteiligten Arzt und beinhaltete in der Regel die Gabe von Metoprolol und Captopril unter Beachtung der Kontraindikationen. Die Überwachung der Patienten auf der Intensivstation wurde bei den AMI-Patienten bis zum Erreichen einer CK unter 100U/L und vollständigen klinischen Stabilisierung, insgesamt jedoch mindestens bis zum folgenden Tag fortgesetzt.

### **Myoglobin-Studie**

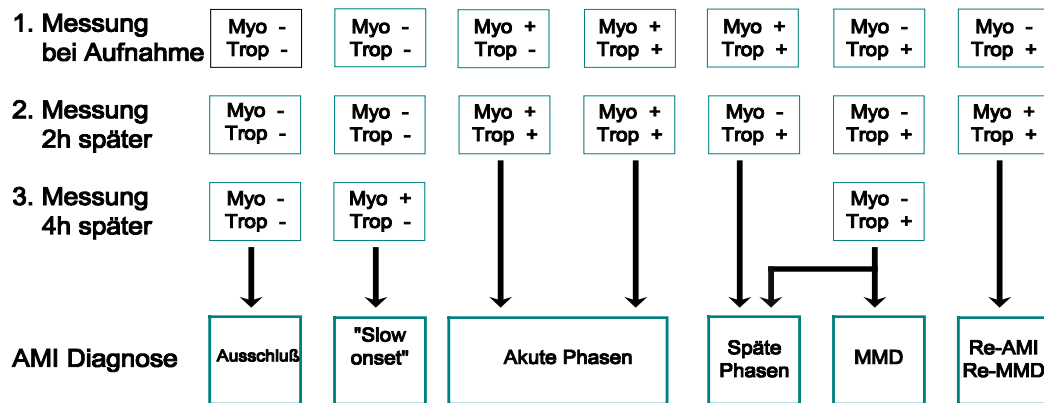
Im Einklang mit den NACB/IFCC-Richtlinien erfolgten die Blutabnahmen in Lithium-Heparin-Plasma-Röhrchen (Sarstedt, Deutschland) bei Aufnahme (0 Stunden) und nach 2, 4, 8, und 12 Stunden. Eine 24 Stunden-Probe wurde zusätzlich zur weiteren Risikostratifizierung entnommen. Die Proben wurden in gleicher Weise, wie unten (siehe Kapitel 2.2.3) ausgeführt, verarbeitet.

Für die Kombination von Myoglobin und Troponin I wurden zwei unterschiedliche Regeln verwendet:

- 1) Der primäre Algorithmus (ALGO, siehe Abbildung 4). Ein positives Ergebnis hinsichtlich der Diagnose AMI bei Aufnahme liegt vor, wenn Myoglobin über dem Cutoff gefunden wird. Ein negatives Ergebnis erfordert ein negatives Myoglobin. Nach 2 und 4 Stunden liegt ein positives Ergebnis vor, wenn Myoglobin *und* Troponin I positiv gefunden werden. Insgesamt gilt ein positives Ergebnis, wenn mindestens ein positives Einzelergebnis vorliegt, es sei denn, bei positivem Aufnahmezeitpunkt sind die folgenden Werte negativ.
- 2) Zu Vergleichszwecken wurde eine alternative Regel (AR) angewendet: Ein positives Testresultat liegt vor, wenn Myoglobin *oder* Troponin I über dem Cutoff liegen. Insgesamt gilt auch hier ein positives Ergebnis, wenn mindestens ein positives Einzelergebnis vorliegt, es sei denn, bei positivem Aufnahmezeitpunkt sind die folgenden Werte negativ.



# Biochemische Diagnose des akuten Myokardinfarkts



**Abbildung 4.** Algorithmus (ALGO) zur Interpretation von Myoglobin- und Troponin-Messungen bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom. Abbildung modifiziert nach Möckel et al.<sup>78</sup>

Myo, Myoglobin; Trop, kardiales Troponin, hier Troponin I; (+), positives Testergebnis, (-), negatives Testergebnis; AMI, akuter Myokardinfarkt; MMD, minor myocardial damage.

Das Follow up der Patienten wurde bis 6 Wochen nach Entlassung aus der Klinik durchgeführt. Der primäre Endpunkt war prospektiv als Kombination aus neuerlichem akutem Koronarsyndrom oder Tod jeglicher Ursache definiert worden. Das Follow up war bei 89,5% der Patienten komplett. Die verbleibenden 21 Patienten (10,5%) waren unbekannt verzogen. Das Follow up nach Entlassung wurde telephonisch im Gespräch mit dem Patienten, seinen Angehörigen oder dem Hausarzt durchgeführt. Im Falle erfolgloser telephonischer Kontaktaufnahme wurden die Patienten persönlich aufgesucht.

### **Troponin I-Studie**

In dieser Studie wurden Blutproben bei Aufnahme und nach 1, 2, 4, 8, 12 und 24 Stunden entnommen. Die Bestimmung der übrigen klinisch-chemischen Variablen und die Verarbeitung der Plasma-Proben erfolgte wie unten angegeben (siehe Abschnitt 2.2.3).

Troponin I- und CK-MB-Masse-Bestimmungen wurden nur zu wissenschaftlichen Zwecken durchgeführt und standen den klinisch verantwortlichen Ärzten nicht zur Verfügung. Allerdings wurden bei einigen Patienten zusätzliche Troponin I- oder T-Bestimmungen aus klinischer Indikation durchgeführt. Alle Patienten wurden für 6 Monate nachbeobachtet.

Der primäre Endpunkt dieser Studie war die Kombination aus akutem Myokardinfarkt oder Tod jeglicher Ursache. Die Gesamtletalität, anstelle der kardialen Letalität, wurde als harter Endpunkt gewählt, da die kardiale Letalität weniger eindeutig bestimmbar ist. Sekundäre Endpunkte waren die Gesamtletalität, akuter Myokardinfarkt, instabile Angina pectoris, Entwicklung einer Herzinsuffizienz, PTCA, aortokoronare Bypass-Operation und neuerliche stationäre Aufnahme. Das Follow up war für alle Patienten vollständig.

### **Troponin T-Studie**

Blutabnahmen zur Bestimmung von Serum-Troponin T erfolgten bei Aufnahme und nach 4 Stunden. Die Verarbeitung der Proben und die Bestimmung der übrigen klinisch-chemischen Variablen erfolgte, wie unten angegeben (siehe Abschnitt 2.2.3). Allerdings wurde bei dieser Studie Serum statt Plasma verwendet. Der primäre Endpunkt der Studie war bis zur Entlassung aus dem Krankenhaus die Kombination aus akutem Myokardinfarkt, neu aufgetretener schwerer Herzinsuffizienz, lebensbedrohlicher Arrhythmie oder Tod jeglicher Ursache. Nach Entlassung war der primäre Endpunkt als Kombination aus neuerlichem akuten Koronarsyndrom, Tod jeglicher Ursache oder stationärer Wiederaufnahme definiert. Das Follow up wurde während des Krankenhausaufenthaltes der Patienten anhand der Krankenakte durchgeführt. Nach 3 und 6 Monaten im Anschluß an die Entlassung wurden die Patienten selbst oder der Hausarzt telephonisch kontaktiert. Wurde ein Patient mehrfach nicht erreicht und konnte der Hausarzt keine Auskünfte erteilen, wurde

versucht, die Patientin oder den Patienten persönlich aufzusuchen. Das Follow up war im Krankenhaus vollständig und nach drei Monaten bei 91% sowie nach 6 Monaten bei 85% der Patienten komplett. Die nicht erreichten Patienten waren unbekannt verzogen.

### **2.2.2 Untersuchungen an Gesunden**

In der Woche vor den Berliner Triathlon-Meisterschaften 1994 wurde den ruhenden Probanden morgendliches Blut zur Ermittlung von Basiswerten abgenommen. Die weiteren Blutproben wurden den Studienteilnehmern unmittelbar nach Abschluß des Wettkampfes in einem Sanitätszelt an der Ziellinie entnommen. Bei 15 der Probanden erfolgten weitere Abnahmen alle 30 Minuten bis zu zwei Stunden nach dem Wettkampf. Bei dem Wettkampf handelte es sich um einen sogenannten Kurz-Triathlon mit 1,4km Schwimmen, 42km Radfahren und 10,6km Laufen. Das entnommene Blut wurde sofort in Eiswasser gekühlt und innerhalb von zwei Stunden bei 5°C für 10 Minuten mit 3000rpm zentrifugiert. Serumproben wurden bei -80°C zur späteren Analyse gelagert.

### **2.2.3 Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz**

Bei allen Patienten wurden zunächst eine ausführliche kardiale Anamnese erhoben sowie ein 12-Kanal-EKG und eine Echokardiographie durchgeführt. Die Blutentnahmen erfolgten unmittelbar vor und nach der Hämodialysetherapie bzw. bei den pre-ESRD-Patienten einmalig nüchtern morgens um 8.00 Uhr. Plasmakonzentrationen von Natrium, Kalium, Kreatinin, Kreatinkinase, einschließlich des Isoenzym MB, und Myoglobin wurden innerhalb von zwei Stunden in unserem Zentrallabor bestimmt. Für die Bestimmung von kardialem Troponin I und T wurden 5mL Lithium-Heparin-Blut bei 5°C für 10min mit 3000rpm zentrifugiert. Drei Aliquots von mindestens 500µL wurden unmittelbar bei -80°C für die spätere Analyse tiefgefroren. Die Kreatinin-Clearance der Patienten wurde nach der Cockcroft-Gault-Formel berechnet<sup>79</sup>.

Bei allen Patienten erfolgte nach mindestens 6 Monaten ein telefonisches Follow up hinsichtlich eines akuten Myokardinfarkts, Tod jeglicher Ursache und Wiederaufnahme in ein Krankenhaus. Als primärer Endpunkt war die Kombination

dieser drei Ereignisse prospektiv festgelegt worden. Die mediane Follow up-Dauer lag bei 9 (7 - 11) Monaten. Das Follow up wurde für alle Patienten abgeschlossen.

#### **2.2.4 Tierexperimentelle Untersuchungen**

Diese Studie war Teil eines größeren tierexperimentellen Projektes in Kooperation mit dem Deutschen Herzzentrum Berlin. Das Projekt war unter der Nummer G0353/98 vom zuständigen Landesamt Berlin genehmigt worden. Die Tierversuche erfolgten in Übereinstimmung mit den Richtlinien der American Physiological Society und der American Heart Association. Das tierexperimentelle Projekt beinhaltete primär die Messung der renalen Hämodynamik unter verschiedenen hämodynamischen Bedingungen (Perikardtamponade, kardiogener Schock, Herz-Lungen-Maschine). Einzelheiten sind bei Möckel et al. beschrieben<sup>80</sup>.

Für die vorliegende Arbeit wurden die Daten von 5 Schweinen mit kardiogenem Schock in Folge passageren medialen Verschlusses der linken vorderen absteigenden Koronararterie (left anterior descending, LAD) verwendet.

Es erfolgte zunächst die Narkose und Instrumentierung der Tiere wie bei Möckel et al. beschrieben<sup>80</sup>. Zusätzlich wurde eine 8,5-French(F)-Schleuse in die rechte Arteria carotis communis der Tiere implantiert. Anschließend erfolgte die Erhebung von Basiswerten sowie eine arterielle Blutabnahme. Lithium-Heparin-Plasma wurde, wie oben (siehe Abschnitt 2.2.3) beschrieben, aus der Arteria femoralis gewonnen und eingefroren. Alle Tiere erhielten 5000IE Heparin intravenös nach der ersten Blutabnahme sowie weitere 5000IE zwei Stunden später. Der linke koronare Hauptstamm wurde anschließend mit einem 7F-multi-purpose-Führungskatheter intubiert. Das linke Koronarsystem wurde mit 2-5mL Kontrastmittel dargestellt. Anschließend wurde ein 2,0/2,5 x 20mm-PTCA-Ballon in den Bereich der medialen LAD gebracht und dort für 30min entfaltet. Die erfolgreiche Okklusion wurde mittels koronarer Druckregistrierung hinter dem Ballon (Radi<sup>®</sup> Tip-Druck-Meßdraht) dokumentiert. Der Führungskatheter wurde nun in die Aorta zurückgezogen. Dieses Manöver wurde bei allen Tieren erfolgreich abgeschlossen. Während der Ischämiephase kam es zu einem Abfall des arteriellen Blutdrucks und des Herzzeitvolumens. Eine zusätzliche intravenöse Gabe von Volumen (physiologische Kochsalzlösung und Hydroxyethylstärke 6%) und Katecholaminen war erforderlich, um die Tiere am Leben zu halten. Nach 30min wurde der PTCA-Ballon geöffnet und

der Führungskatheter erneut in den linken Hauptstamm eingebracht. Durch Injektion von 2-5mL Kontrastmittel wurde dokumentiert, daß die LAD offen war. Anschließend wurden Führungskatheter und Ballon entfernt. Weitere Blutentnahmen erfolgten bei Öffnen des Ballons sowie alle 30min bis 4 Stunden nach Beginn der Reperfusionphase. 4 der 5 Tiere ließen sich im Anschluß an die Ischämie erfolgreich stabilisieren und erreichten katecholaminfrei das Ende der Nachbeobachtungszeit. Ein Tier mußte vorzeitig getötet werden, da eine hämodynamische Stabilisierung nicht erreicht werden konnte. Die Tötung der Tiere erfolgte durch intravenöse Bolusinjektion von Kaliumchlorid. Unmittelbar nach Eintreten des Herzstillstandes wurden die Tiere thorakotomiert und das Herz komplett entnommen und mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Anschließend wurden etwa einen Kubikzentimeter große Proben aus dem ischämischen Bezirk des linken Ventrikels sowie zur Kontrolle Proben aus der linksventrikulären Hinterwand entnommen. Diese Proben wurden mit physiologischer Kochsalzlösung überschichtet und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zu weiteren Analyse wurden die Proben bei -20°C gelagert.

Aus den Blutproben wurden kardiales Troponin T und I bestimmt. Die Herzmuskelbiopsien wurden in drei Teile geteilt: (1) zur lichtmikroskopischen Analyse, (2) zur quantitativen Bestimmung von Troponin T und (3) zur Durchführung einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) der Messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) von Troponin I.

## **2.3 Analytische Methoden**

### **2.3.1 Kardiale Marker**

Die Plasma- bzw. Serum-Konzentrationen von Natrium, Kalium (ionenselektive Elektroden, indirekt) und Kreatinin (Jaffe-Reaktion, kinetisch) wurden an einem DAX<sup>®</sup> 72 Clinical Chemistry Analyzer (Bayer Diagnostics) nach Herstellervorschriften bestimmt. CK, CK-MB und Myoglobin wurden mit einem Hitachi 911<sup>®</sup>-System unter Verwendung von System-Testkits (Roche Diagnostics) gemessen. Der obere Referenzbereich der CK (optimierte Standardmethode der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie) liegt bei 70U/L für Frauen und 80U/L für Männer.

Referenzwerte für die CK-MB, kinetisch nach Immuninhibition bestimmt, reichen bis zu 10U/L oder bis zu 6% der gesamten CK-Aktivität. Myoglobin wurde mit einem latexverstärkten immunturbidimetrischen Test bestimmt. Der Referenzbereich geht hierbei bis 70µg/L. Die biochemischen Kriterien für einen Myokardinfarkt waren eine CK von  $\geq 100\text{U/L}$  mit einem MB-Anteil von  $\geq 6\%$  oder ein Myoglobinwert  $\geq 90\mu\text{g/L}$ . Die kardialen Troponine und die CK-MB-Masse wurden aus den eingefrorenen Proben bestimmt. Diese wurden zügig bei 21°C aufgetaut, für 5min mit 2500rpm zentrifugiert und anschließend mit den jeweiligen Testsystemen verarbeitet.

**Kardiales Troponin T** wurde mit einem kommerziellen Enzymimmunoassay der Firma Roche Diagnostics bestimmt. Bei der Troponin T-Studie kam die erste Generation dieses Tests zum Einsatz und wurde auf einem ES<sup>®</sup>300 Enzymimmunoassayautomaten (Roche Diagnostics; zum Zeitpunkt der Studie: Boehringer Mannheim) durchgeführt. Bei diesem Immunoassay wurden ein polyklonaler und ein spezifischer monoklonaler Antikörper gegen kardiales Troponin T eingesetzt. Die abschließende Messung beruht auf der photometrischen Bestimmung der im Immun-Sandwich gebundenen Peroxidaseaktivität. Die analytische Sensitivität des Tests liegt bei 0,04µg/L, der Meßbereich geht von 0,04 bis 15,0µg/L, und der Interassay-VK betrug nach Herstellerangaben <10% bei niedrigen Troponin T-Konzentrationen ( $> 0,1\mu\text{g/L}$ ), <5% bei mittleren (0,5-5µg/L) und 2% bei hohen Troponin T-Konzentrationen ( $>5\mu\text{g/L}$ ).

Bei den Untersuchungen an Gesunden und den Patienten mit Niereninsuffizienz sowie den Tierversuchen wurde eine neuere, verbesserte Generation dieses Tests am Elecsys 2010<sup>®</sup> (Roche Diagnostics) verwendet. Dieser Immunoassay setzt zwei monoklonale murine Antikörper ein, die spezifisch für kardiales Troponin T sind. Beide Antikörper tragen assayspezifische Markierungen für die Festphasenbindung beziehungsweise die Detektion, die abschließende Messung beruht auf Elektrochemilumineszenz<sup>81</sup>. Die analytische Sensitivität des Tests liegt bei 0,01µg/L, der Meßbereich geht von 0,01 bis 25,0µg/L, und der Interassay-VK betrug 9,3% bei niedrigen Troponin T-Konzentrationen (im Mittel 0,1µg/L), 6,1% bei mittleren (0,33µg/L) und 4,5% bei hohen Troponin T-Konzentrationen (5,9µg/L). Die Meßdauer beträgt 9min.

Kardiales Troponin T ist im Blut Gesunder normalerweise nicht nachweisbar.

**Kardiales Troponin I** wurde in den klinischen Studien mittels zweier verschiedener kommerziell verfügbarer Testsysteme der Firmen Dade (Stratus®II-TnI; TnI-S) und Behring Diagnostics (Opus®plus-TnI; TnI-O) gemessen. Mittlerweile haben sich beide Firmen zu Dade Behring zusammengeschlossen.

Bei dem Immunofluoreszenz-Assay TnI-S kommt das Gerät Stratus®II zum Einsatz. Hierbei werden ein primärer spezifischer monoklonaler Antikörper gegen kardiales Troponin I und ein zweiter, mit alkalischer Phosphatase gekoppelter Antikörper eingesetzt. Die analytische Sensitivität liegt bei 0,35µg/L, der Meßbereich reicht von 0,35 bis 50µg/L. Der Interassay-VK betrug 8,5% bei niedrigen Troponin I-Konzentrationen (im Mittel 5,1µg/L), 7,5% bei mittleren (18,5µg/L) und 4,4% bei hohen Konzentrationen (33,4µg/L). Die Meßdauer beträgt 10min. Dieser Assay hat eine gleich hohe Affinität zu dem ternären (T-I-C) wie zu dem binären (I-C) Troponin-Komplex<sup>39</sup>.

Bei Gesunden liegen die Meßwerte nach Herstellerangaben unterhalb des Meßbereichs.

Bei dem Immunofluoreszenz-Assay TnI-O kommt das Gerät Opus®plus zum Einsatz. Der verwendete Immunoassay enthält zwei polyklonale Ziegen-Antikörper gegen kardiales Troponin I, die mittels Affinitätschromatographie gereinigt und damit im Hinblick auf die analytische Spezifität monoklonalen Antikörpern vergleichbar sein sollen, allerdings eine höhere Avidität als diese aufweisen<sup>82</sup>. Die analytische Sensitivität dieses Assays liegt bei 0,5µg/L, der Meßbereich zwischen 0,5 und 150µg/L. Der Interassay-VK betrug 4,5% bei niedrigen Troponin I-Konzentrationen (im Mittel 3,7µg/L), 5,6% bei mittleren (19,5µg/L) und 4,8% bei hohen Konzentrationen (99,1µg/L). Die Meßdauer beträgt 20min. Dieses Testsystem erkennt den binären Troponin-Komplex mit zweifach höherer Affinität als den ternären Komplex<sup>39</sup>.

Bei Gesunden liegen die Meßwerte unterhalb des Meßbereichs<sup>82</sup>.

Die **CK-MB-Masse** wurde ebenfalls mit dem Opus®plus bestimmt. Der verwendete Immunoassay enthält einen monoklonalen Maus-Festphasenantikörper gegen die CK-MB. Ein weiterer polyklonaler Antikörper gegen CK-MM ist mit alkalischer Phosphatase gekoppelt. Die analytische Sensitivität betrug 0,6µg/L, der Meßbereich lag zwischen 0,6 und 300µg/L. Der Interassay-VK betrug 9,2% bei niedrigen CK-MB-

Konzentrationen (im Mittel 6,3µg/L), 9,3% bei mittleren (20,2µg/L) und 7,7% bei hohen Konzentrationen (93,3µg/L). Die Meßdauer beträgt 20min.

Bei gesunden Probanden liegen die Werte unter 5µg/L.

Bei den Tierversuchen wurde **kardiales Troponin I** mit dem Vitros Eci<sup>®</sup> Immundiagnostik-System (Ortho Clinical Diagnostics, UK) gemessen. Dieser Troponin I-Assay enthält einen monoklonalen anti-Troponin I-Maus-Antikörper und einen weiteren polyklonalen anti-Troponin I-Ziegen-Antikörper. Die analytische Sensitivität dieses Assays liegt bei 0,02µg/L, der Meßbereich zwischen 0,02 und 100µg/L. Der Interassay-VK betrug 5,3% bei niedrigen Troponin I-Konzentrationen (im Mittel 0,761µg/L), 3,4% bei mittleren Konzentrationen (4,13µg/L) und 2,8% bei hohen Konzentrationen (15,7µg/L). Der obere Referenzbereich (97,5%-Quantile von 200 gesunden Blutspendern) lag nach Angaben des Herstellers bei 0,08µg/L für Plasma.

**Schwellenwerte.** Die Wahl der Schwellenwerte (Cutoffs) ist essentiell für den Vergleich analytischer Methoden und die Aussagekraft der Ergebnisse im klinischen Einsatz. Wie oben beschrieben wurde, unterscheiden sich insbesondere die Charakteristika der verschiedenen Troponin-Tests erheblich. In Kürze: (1) Der Konzentrationsbereich von Troponin T unterscheidet sich von dem von Troponin I. Standardisierungsbemühungen werden unternommen, sind aber bisher nicht erfolgreich<sup>13</sup>. (2) Die im Plasma gesunder Blutspender enthaltenen Troponin T-Konzentrationen liegen an oder unter der Nachweisgrenze der neuesten Testgeneration. Verschiedene Troponin I-Tests wie auch TnI-S und TnI-O messen entgegen den Herstellerangaben vereinzelt geringe Werte in diesen Kollektiven (siehe Tabelle 8). (3) Die drei verwendeten Troponin I-Tests sind nicht standardisiert. Demzufolge repräsentieren die Testergebnisse nicht dieselbe Menge an Substanz. Eine Umrechnung der Testergebnisse ineinander ist nicht möglich.

In Abhängigkeit von dem Zweck der jeweiligen Untersuchung wurden unterschiedliche Cutoffs für die Troponin-Tests verwendet:

- 1) Cutoffs für die Risikostratifizierung bei Patienten mit MMD: 0,1µg/L für TnT<sup>29; 30; 83</sup>, 0,4µg/L für TnI-S<sup>32</sup> und 2,0µg/L<sup>33; 84</sup> bzw. 1,6µg/L<sup>85</sup> für TnI-O. In der Troponin T-Studie wurde ein Cutoff von 0,2µg/L verwendet, da die



erste Generation des Troponin T-Tests verwendet wurde (siehe vorheriger Abschnitt).

- 2) Cutoffs für den akuten Myokardinfarkt: 0,5µg/L für TnT<sup>27</sup>, 3,1µg/L für TnI-S<sup>70</sup> und 2,5µg/L für TnI-O<sup>86</sup>.
- 3) Die generell empfohlenen Cutoffs der Hersteller lauteten zum Zeitpunkt der Messungen: 0,1µg/L für TnT (Ausnahme siehe (1)), 1,5µg/L für TnI-S und 2,0µg/L für TnI-O. Bisher nicht publizierte Daten von Patienten mit akutem Myokardinfarkt legen einen Cutoff von 0,2µg/L für TnT nahe (A. Wu, Hartford, CT, USA, persönliche Mitteilung).
- 4) Bei dem Vergleich der Troponin I-Testsysteme (Troponin I-Studie) wurden zusätzlich optimierte Cutoffs anhand der jeweils besten Odds ratio für den primären Endpunkt berechnet.

Für Myoglobin wurde auf der Basis früherer eigener Studien ein Cutoff von 90µg/L gewählt<sup>87</sup>. Für die CK-MB-Masse verwendeten wir einen Schwellenwert von 7µg/L<sup>84</sup>.

**Qualitätskontrolle, Kalibrierung, Referenzbereiche.** Die Bestimmungen von Troponin T und der CK-MB-Masse wurde nach den Vorschriften der Hersteller durchgeführt. Präzisionsangaben beziehen sich auf Messungen an 5-10 aufeinander folgenden Arbeitstagen. Die Richtigkeitskontrolle wurde an Hand kommerziell erhältlicher Kontrollplasmen durchgeführt. Die Kalibrierung der Geräte erfolgte ebenfalls in den vom Hersteller empfohlenen Abständen. Das Opus<sup>®</sup>plus-System wurde abweichend häufiger kalibriert (wöchentlich statt 14tägig). Für jede neue Charge von Testmodulen wurde eine neue Kalibrierung durchgeführt. Präzisionsangaben beziehen sich hier auf Messungen innerhalb einer Charge von Testmodulen an 5 aufeinander folgenden Arbeitstagen.

Die Messungen von Natrium, Kalium, Kreatinin, CK-, CK-MB-Aktivität, Myoglobin, Troponin T (Elecsys<sup>®</sup>) und Troponin I (Stratus<sup>®</sup>II) wurden in unserem Zentrallabor durchgeführt; die übrigen Messungen erfolgten in unserm Forschungslabor in Zusammenarbeit mit erfahrenen Medizinisch-technischen Assistentinnen. Die Troponin I-Messungen am Vitros Eci<sup>®</sup> wurden im Labor von Prof. Alan H. Wu, Hartford, CT, USA durchgeführt.

Für die Troponin-Tests in den klinischen Studien (Troponin T, TnI-S und TnI-O) wurden eigene Referenzwerte bei 20 Gesunden (10 Männer, 10 Frauen) gemessen.

Hierbei handelte es sich um Mitarbeiter der Internistischen Intensivstation im Alter von 20 bis 50 Jahren. Die Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Messungen in diesem Kollektiv.

**Tabelle 8.** Referenzwerte der kardialen Troponine bei gesunden Probanden

Probandennummer	Troponin T [µg/L]	TnI-S [µg/L]	TnI-O [µg/L]
1	<0,01	<0,35	<0,5
2	<0,01	<0,35	<0,5
3	<0,01	<0,35	<0,5
4	<0,01	<0,35	2,55/1,68 <sup>#</sup>
5	<0,01	<0,35	1,67/0,618 <sup>#</sup>
6	<0,01	<0,35	<0,5
7	<0,01	<0,35	<0,5
8	<0,01	<0,35	<0,5
9	<0,01	<0,35	<0,5
10	<0,01	1,4	<0,5
11	<0,01	<0,35	<0,5
12	<0,01	<0,35	<0,5
13	<0,01	<0,35	1,5/<0,5 <sup>#</sup>
14	<0,01	0,7	<0,5
15	<0,01	<0,35	2,37/2,67 <sup>#</sup>
16	<0,01	0,6	2,55/2,42 <sup>#</sup>
17	<0,01	<0,35	4,86/<0,5 <sup>#</sup>
18	<0,01	<0,35	1,46
19	<0,01	<0,35	<0,5
20	<0,01	<0,35	<0,5

TnI-S, Stratus<sup>®</sup> II-Troponin I; TnI-O, Opus<sup>®</sup>-Troponin I; <sup>#</sup> Nachbestimmung.

Aufgrund der im Einzelfall falsch positiven Einzelbestimmungen von TnI-O wurden prinzipiell Doppelbestimmungen vorgenommen. Bei einem Unterschied von > 20% wurde eine dritte Bestimmung vorgenommen und dann der mittlere Wert verwendet. Die Ursache der im Einzelfall falsch positiven Troponin I-Werte des Opus<sup>®</sup>-Systems liegt wahrscheinlich in der störanfälligen Pipetiereinrichtung des Systems begründet. Häufige Wartung, Kalibrierung und die Doppelbestimmungen sollten die Fehler minimieren. Darüberhinaus scheinen bei TnI-S und TnI-O geringe Werte bei Gesunden vorkommen zu können. Bei TnI-S lagen diese Werte immer unter dem empfohlenen Cutoff von 1,5µg/L.

### 2.3.2 Analyse von Myokard-Gewebeproben Lichtmikroskopie

Die Gewebeproben wurden zunächst bei Zimmertemperatur aufgetaut und in neutral gepuffertem Formaldehyd (8%) fixiert sowie anschließend in Paraffin eingebettet. Es wurden 1-3µm dicke Schnitte gefertigt. Anschließend erfolgten Färbungen mit Hämatoxylin-Eosin (HE) sowie nach van Gieson zur Darstellung des Bindegewebes entsprechend standardisierter Routinevorschriften. Repräsentative Ausschnitte der Proben wurden in einer 200fachen Vergrößerung (Zeiss Axioskor<sup>®</sup>-Mikroskop) photographiert (Sony 3CCD) und digital im JPG-Format abgespeichert.

#### Quantitative Messung von Troponin T im Myokard

**Zytosolische Fraktion.** Das Myokardgewebe (65mg) wurde in 6,5mL Tris-Puffer (Puffer 1) mit einem pH-Wert von 7,4 homogenisiert und anschließend bei 100000g für 60min ultrazentrifugiert. Der Überstand wurde entnommen und die Prozedur mit dem Pellet wiederholt. Die beiden Überstände wurden am Ende zusammengeführt.

**Myofibrilläre Fraktion.** Das verbleibende Pellet nach Entfernen des Überstandes mit der zytosolischen Fraktion (siehe oben) wurde in 6mL Harnstoff-Puffer (Puffer 2) bei einem pH-Wert von 7,4 suspendiert und 30min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde mit 20000g für 30min zentrifugiert. Nach Abnahme des Überstandes wurde die Prozedur mit einer verlängerten Inkubationszeit (über Nacht bei Raumtemperatur) wiederholt. Die beiden gewonnenen Überstände wurden kombiniert<sup>88</sup>. Beide Fraktionen wurden bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

Die Gesamtprotein-Konzentration der Gewebeproben wurde mittels Photometrie bei 280nm (A280) bestimmt. Zur Konzentrationsbestimmung wurde eine Albumin-

Standardkurve erstellt (siehe Abbildung 5). Dieses Vorgehen wurde gewählt, weil das Standardverfahren zur Proteinbestimmung (Bradford-Assay) mit dem verwendeten Harnstoff-Puffer interferiert. Die Abbildung 5 zeigt, daß bei 280nm keine Interferenzen mit den verwendeten Puffern auftreten.

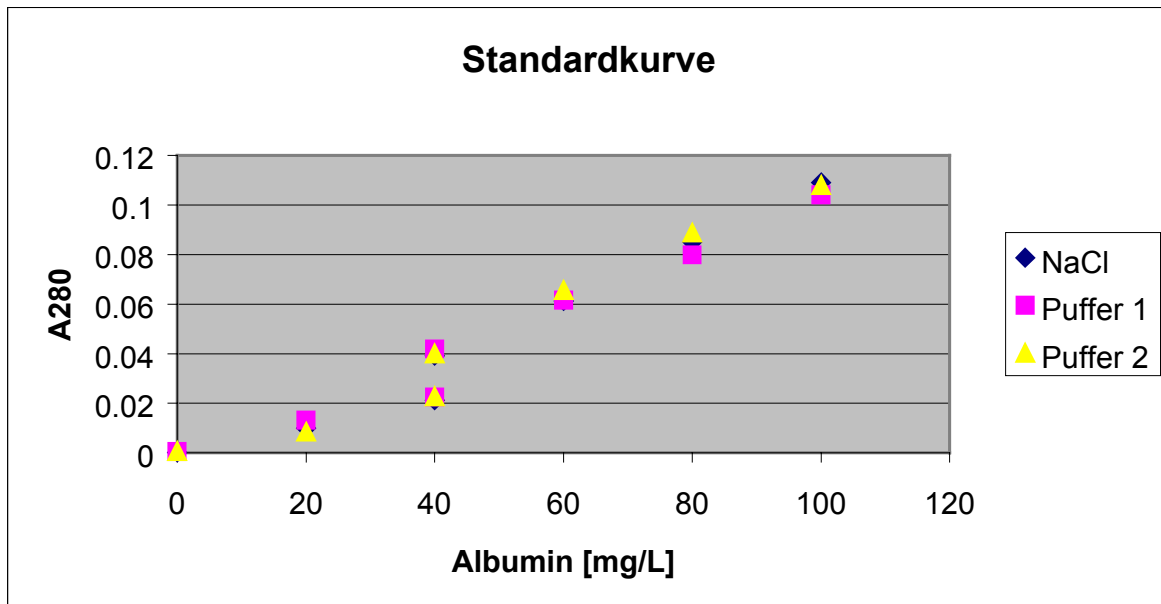


Abbildung 5. Standardkurve der Proteinbestimmung

NaCl, Natriumchlorid; Troponin T-Konzentrationen wurden mit dem Elecsys® 2010 (siehe oben) bestimmt. Die myofibrilläre Fraktion wurde zuvor 1:3 verdünnt.

### mRNA-Bestimmung von Troponin I

Messenger-RNA des kardialen Troponin I wurde mittels SYBR®-Green reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) gemessen. Eine Troponin I-DNA-Sequenz vom Schwein wurde uns von R. Young und J.M. Canthy, State University New York, New York, USA, mitgeteilt (persönliche Mitteilung, bisher nicht publizierte Daten). Der Primer wurde mittels PrimerExpress® Software entworfen. Die PCR wurde mit einem Sequence Detection System GeneAmp 5700® (PE Applied Biosystems, USA) unter Verwendung des SYBR®-Green Core Reagent Kits (Perkin-Elmer, USA) durchgeführt. Für jede Probe erfolgte eine 4fach-Bestimmung der threshold cycle Differenzen (delta-ct). Zur Vermeidung von Kontaminationen wurde die Reaktion inklusive AmpErase® UNG und dUTP-Nukleotiden durchgeführt. Die Spezifität der Reaktion wurde abschließend durch eine Schmelzkurve am GenAmp

5700<sup>®</sup> überprüft. Die Zielgenexpression wurde mit 18s-RNA normalisiert (delta-delta-ct-Methode).

## 2.4 Statistik

Die Analyse der Daten wurde nach dem intention-to-treat-Prinzip durchgeführt, das heißt alle dokumentierten Daten wurden analysiert, kein Wert wurde ausgeschlossen.

Die Verteilung der analysierten Variablen war in den meisten Fällen nicht sicher normal, daher wurden quantitative Variablen grundsätzlich als Mediane und Quartilen oder Range angegeben. Entsprechend wurden die Daten graphisch als Box-Visker-Plots dargestellt. Hier werden Minimum, Maximum, Median und Quartilen graphisch aufgetragen. 50% der Werte befinden sich in der Box. Extremwerte, die mehr als 1,5fach (<sup>o</sup>) bzw. 3fach (\*) außerhalb der Box liegen, werden gesondert dargestellt (siehe z. B. Abbildung 13). Unterschiede wurden mittels Wilcoxon-Test für verbundene bzw. unverbundene Stichproben auf Signifikanz geprüft. Verläufe von Variablen wurden mittels nicht parametrischer Varianzanalyse (Friedman) analysiert. Ein  $\alpha$ -Fehler von 5% wurde angenommen. Lediglich das Alter der Probanden und Patienten erschien normal verteilt und wurde zu Vergleichszwecken mit der Literatur als Mittelwert und Standardabweichung angegeben.

Lineare Korrelationskoeffizienten wurden nach Pearson berechnet. Dies Verfahren wurde verwendet, da es wenig anfällig bei Verletzung der Voraussetzung einer Normalverteilung ist, welche in den meisten Fällen zwar nicht belegt wurde, aber auch nicht sicher nicht vorlag und der Pearson-Test eine deutliche höhere Power als die nicht parametrische Spearman-Korrelationsanalyse hat.

Qualitative Variablen wurden in Prozent und 95%-Konfidenzintervallen (CI) angegeben. Unterschiede zwischen qualitativen Variablen wurden mittels Chi-Quadrat-Test analysiert. Auch hier wurde ein  $\alpha$ -Fehler von 5% angenommen.

Für den Vergleich der Troponin I-Verfahren hinsichtlich ihres diagnostischen Nutzens wurden Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurven, Sensitivität und Spezifität berechnet. Die ROC-Statistik wurde nach den Vorschlägen von Henderson und Bhayana<sup>89</sup> durchgeführt.

Der Wert einzelner Marker für die Risikostratifizierung wurde durch die Berechnung von Odds ratios (OR) mittels logistischer Regressionsanalyse festgestellt. In die

logistische Regressionsanalyse wurden jeweils geeignete Kontrollvariablen in Abhängigkeit von der Fallzahl und jeweiligen Fragestellung einbezogen. Diese Kontrollvariablen waren in der Regel: Alter, Geschlecht und Therapieform. Die jeweils verwendeten Kontrollvariablen sind bei den Ergebnissen angegeben.

Die Ergebnisse der Troponin I-Studie sind auch in Form von Kaplan-Meier-Überlebenskurven angegeben. Zum Vergleich der Kurven wurde eine Cox-Regression mit denselben Kontrollvariablen wie in der logistischen Regression durchgeführt.

Bei einigen Studien wurde die erforderliche Fallzahl vorher mittels einer Power-Analyse errechnet. Dabei wurde ein  $\beta$ -Fehler von 20% angenommen. Die Analyse wurde mittels MedCalc<sup>®</sup>, Version 4.31.001, vorgenommen. Die Tabelle 9 faßt die Ergebnisse der Power-Analysen für die verschiedenen Studien zusammen.

Die statistischen Berechnungen und Erstellung der Graphiken erfolgten auf einem Personal Computer mittels MedCalc<sup>®</sup> und SPSS<sup>®</sup> für Windows<sup>®</sup> (SPSS<sup>®</sup> Inc., V. 9.01).

**Tabelle 9.** Power-Analysen für die klinischen Studien

Studie	$\alpha$	$\beta$	Literatur <sup>a</sup>	CALC	Fallzahl
Myoglobin-Studie	5	20	39* 80** 85***	190 <sup>+</sup> 108/137 <sup>++</sup> 78 <sup>+++</sup>	200 141
Troponin I-Studie	5	20	60 <sup>§</sup>	160 <sup>§§</sup>	162
Troponin Niereninsuffizienz	und 5	20	(+) 5,9-20,4 (-) 1,6-8,7	31-47	40

<sup>a</sup> Ereignishäufigkeit in Prozent für Troponin-positive (+) und -negative (-) Patienten anhand früherer Studien<sup>90; 91</sup>; CALC, kalkulierte Fallzahl; \* frühe Sensitivität (etwa 4 h nach Symptombeginn); \*\* frühe Spezifität; \*\*\* früher positiv-prädiktiver Wert (PPW) für Myoglobin nach<sup>92</sup>; + minimale Fallzahl, um Differenz von 10% nachzuweisen; ++ minimale Fallzahlen, um 10% niedrigere/höhere Spezifität zu erkennen; +++ minimale Fallzahl, um 10% höheren PPW zu erkennen; § Sensitivität nach 2 h für Troponin; §§ Fallzahl, um 15% höhere Sensitivität zu erkennen.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Untersuchungen an Patienten mit akutem Koronarsyndrom**

##### **Myoglobin-Studie**

Die mediane Zeit vom Symptombeginn bis zur ersten Therapie ("Delay") und der ersten Blutabnahme lag bei 245min (0-2880min) in der gesamten Studienpopulation. Die Zeit bis zum Beginn der Reperfusionstherapie ist in Tabelle 2 (siehe oben) wiedergegeben. Die Tabelle 10 zeigt die Charakteristika der 67 Patienten, die innerhalb der ersten 4h nach Aufnahme Myoglobin-negativ waren. Die Daten belegen, daß eine Myoglobin-Messung nach 4 Stunden nützlich ist, um einen Q-wave-Infarkt auszuschließen. Patienten mit positiven Myoglobin-Werten innerhalb der ersten 4h nach Aufnahme entwickelten mit einer Häufigkeit von 73% einen AMI mit einer CK über 200U/L. Die 26 Myoglobin-positiven Patienten mit der Diagnose AMI und ohne Intervention hatten ebenfalls eine Wahrscheinlichkeit von 73%, CK-Werte über 200U/L zu entwickeln.

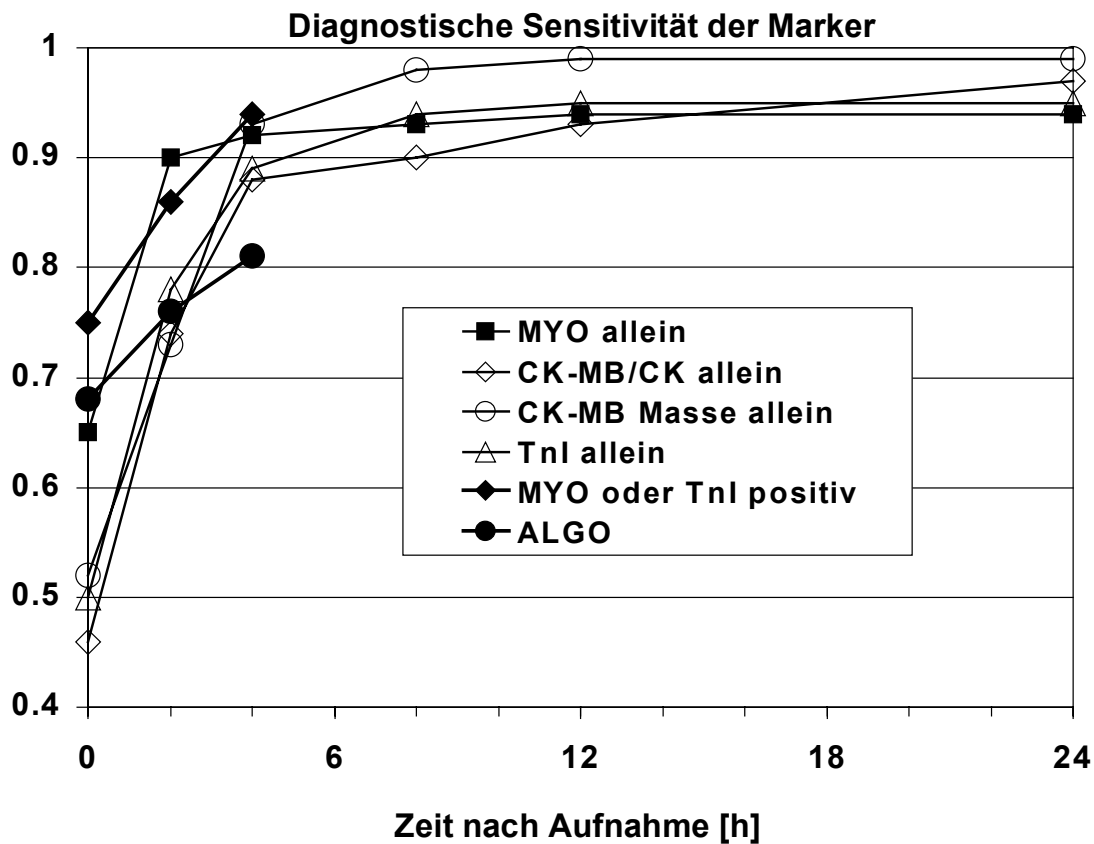
**Tabelle 10.** Charakteristika der 67 Patienten mit Myoglobin-Werten unter 90µg/L innerhalb der ersten 4 Stunden nach Aufnahme.

<b>Qualitative Variablen</b>	<b>Prozent (95%-CI)</b>
AMI	13 (6-24)
Männer	76 (64-85)
Akut-PTCA	20 (11-31)
Thrombolyse	3 (0-11)
Q-Wellen-AMI	0 (5) <sup>+</sup>
Instabile AP im Follow up	49 (37-62)
AMI im Follow up	3 (0-11)
Tod im Follow up	0 (5) <sup>+</sup>
Jegliches Ereignis im Follow up	49 (37-62)
<b>Quantitative Variablen</b>	<b>Median (Quartilen) [MIN-MAX]</b>
CK-Aktivität nach 2h <sup>a</sup> [U/L]	34 (19/63) [8-177]
CK-Aktivität nach 24h <sup>b</sup> [U/L]	32 (20,5/51,5) [7-606]

Das mittlere Alter der Patienten lag bei 58,25 SD14,25 (29-90) Jahren. CI, Konfidenz-Intervall; MIN, Minimum; MAX, Maximum; AMI, akuter Myokardinfarkt; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie; AP, Angina pectoris; CK, Kreatinkinase; SD, Standardabweichung; <sup>+</sup> einseitiges 97,5%-Konfidenz-Intervall; <sup>a</sup> der höchste mediane Wert wurde zu dieser Zeit gefunden; <sup>b</sup> der höchste individuelle Wert wurde zu dieser Zeit gefunden. Zwei Patienten hatten CK-Werte über 100U/L nach 24h, einer 108U/L und der andere 606U/L. Letzterer Patient erhielt eine späte PTCA (1010min nach Symptombeginn) eines verschlossenen Gefäßes; innerhalb der ersten 4h wurde kein CK- oder Myoglobin-Anstieg festgestellt; Troponin I (Stratus®II) betrug 122µg/L nach 24h (7h nach PTCA).



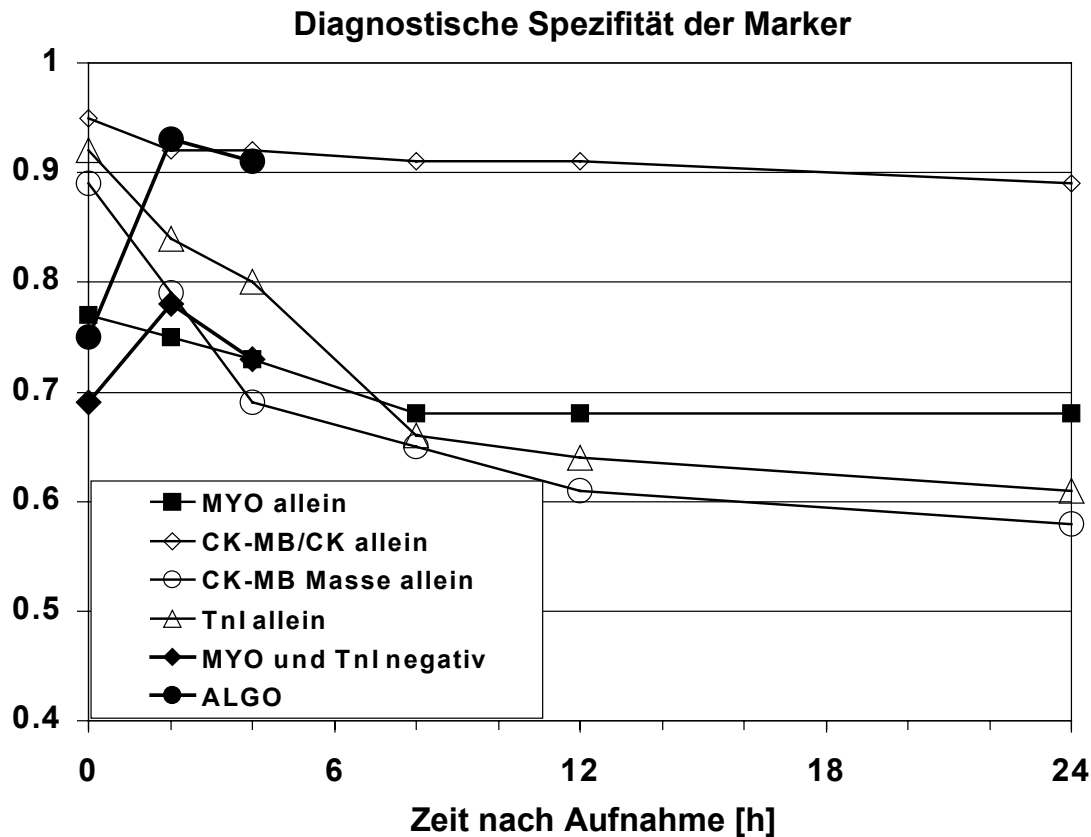
Die Sensitivität und Spezifität aller gemessenen biochemischen Marker sind in den Abbildungen 6 und 7 dargestellt.



**Abbildung 6.** Diagnostische Sensitivität der Marker

Abbildung modifiziert nach Möckel et al.<sup>78</sup>

Die Sensitivität von Myoglobin hinsichtlich der Diagnose AMI war 65% (95%-CI: 55%-73%) im Vergleich zu 46% (95%-CI: 37%-56%) der CK-MB-/CK-Aktivität. Die Werte nach 2h liegen bei 90% (82%-95%) bzw. 74% (65%-82%). Die Sensitivität des Kombinationsalgorithmus ALGO (siehe Abbildung 4) bei Aufnahme war 68% (56%-78%) und die Sensitivität des alternativen Algorithmus (siehe Abschnitt Methodik 2.2.1) betrug 75% (64%-84%).



**Abbildung 7.** Diagnostische Spezifität der Marker

Abbildung modifiziert nach Möckel et al.<sup>78</sup>

Die diagnostische Spezifität hinsichtlich eines AMI bei Aufnahme lag bei 77% (95%-CI: 66%-86%) für Myoglobin, 95% (87%-98%) für die CK-MB-/CK-Aktivität, 89% (78%-96%) für die CK-MB-Masse und 75% (61%-86%) für ALGO.

Der positiv-prädiktive Wert von Myoglobin lag bei 81% (71%-88%) zum Zeitpunkt der Aufnahme und 84% (76%-89%) nach 4 Stunden. Mit ALGO konnten 80% (65%-89%) bei Aufnahme und 93% (85%-98%) nach 4h erzielt werden.

Der höhere Troponin I-Cutoff von 3,1µg/L in Abbildung 6 und 7 wurde gewählt, da der niedrigere Wert von 1,5µg/L einen signifikanten Abfall der kumulativen Spezifität (46% versus 61% nach 24h) zur Folge hatte, ohne jedoch einen nennenswerten Gewinn an Sensitivität zu erbringen (97% versus 95% nach 24h).

Die Tabellen 11a und b zeigen den prognostischen Wert der verschiedenen Marker in Form des prozentualen Auftretens kardialer Ereignisse (siehe Tabelle 11a) sowie der Odds ratios mit CI (siehe Tabelle 11b). Das Auftreten von Ereignissen in der

Subgruppe (siehe Tabelle 6) nach Troponin und Behandlungsstrategie ist in der Tabelle 12 wiedergegeben.

Lediglich die CK-MB-Masse und Troponin I waren signifikante unabhängige Prädiktoren für den primären Endpunkt 6 Wochen nach Entlassung.

**Tabelle 11a.** Ereignisse im Follow up aller Patienten der Myoglobin-Studie (n = 200)

Variable	ITS	ITS-Entlassung	Entlassung-6 W	Kumulativ
Primärer EP	38 (31-45)	19 (13-27)	33 (26-41)	51 (44-58)
AMI	4 (1-7)	1 (0-4)	3 (1-6)	6 (3-11)
Instabile AP	34 (27-41)	17 (11-23)	32 (25-39)	46 (39-54)
Tod	6 (3-11)	3 (0-5)	0 (0-2) <sup>+</sup>	10 (6-15)

Angaben in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen (CI); das Follow up war für 89,5% der Patienten nach 6 Wochen vollständig. ITS, Intensivtherapiestation; W, Wochen nach Entlassung; EP, Endpunkt; AMI, akuter Myokardinfarkt; AP, Angina pectoris (nach Braunwald-Kriterien definiert<sup>7</sup>); <sup>+</sup> einseitiges 97,5%-CI.

**Tabelle 11b.** Prognostischer Wert der kardialen Marker im 6 Wochen-Follow Up für den kombinierten primären Endpunkt (AMI, instabile AP oder Tod)

Variable	Odds ratio	95%-Konfidenz-Intervall	p-Wert
Myoglobin $\geq 90\mu\text{g/L}$	1,88	0,74 - 4,75	0,181
CK-MB/CK $\geq 0,06$	4,09	0,81 - 20,75	0,089
CK-MB-Masse $\geq 7\mu\text{g/L}$	3,37	1,12 - 10,14	0,031
Troponin I $\geq 1,5\mu\text{g/L}$			
Aufnahme	0,82	0,40 - 2,18	0,655
0-4h	1,08	0,43 - 2,73	0,873
0-24h	2,00	0,69 - 5,79	0,202
Troponin I $\geq 3,1\mu\text{g/L}$			
Aufnahme	0,93	0,34 - 1,97	0,873
0-4h	1,14	0,41 - 3,16	0,799
0-24h	3,31	1,08 - 10,20	0,037

Ergebnisse der logistischen Regression; die Marker wurden als positiv angesehen, wenn mindestens ein Wert in dem angegebenen Zeitraum den Cutoff erreichte oder überschritt; Kontrollvariablen waren Alter, Geschlecht, Diagnose und Therapieform (Thrombolyse, PTCA, konservative Therapie). AMI, akuter Myokardinfarkt; AP, Angina pectoris; CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie.

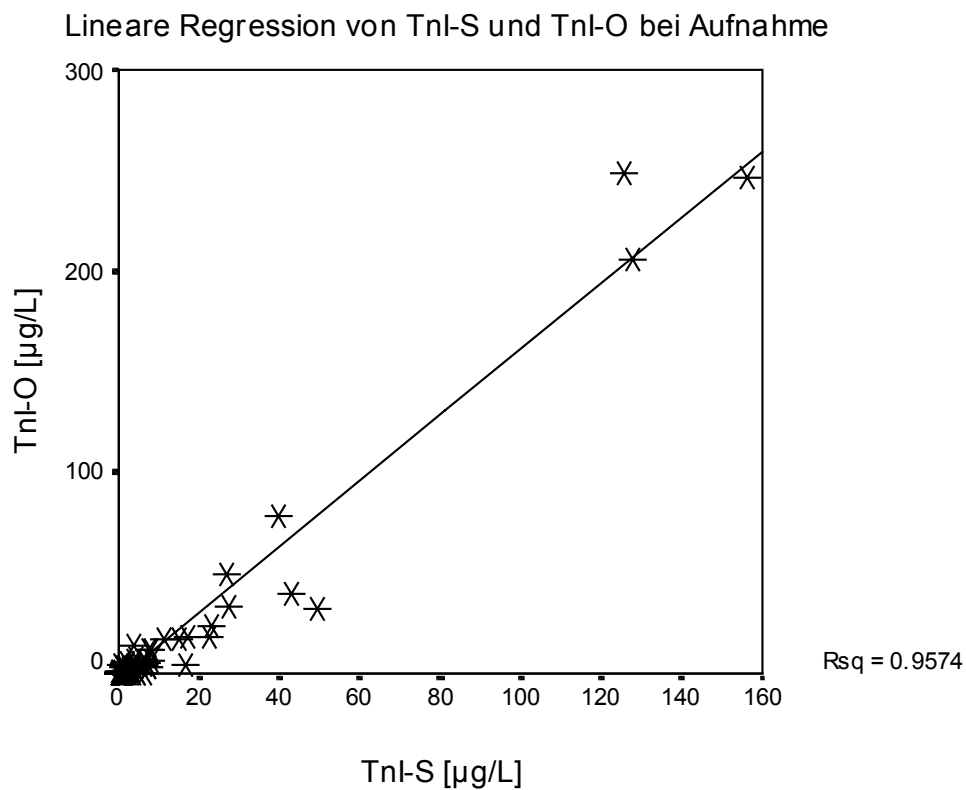
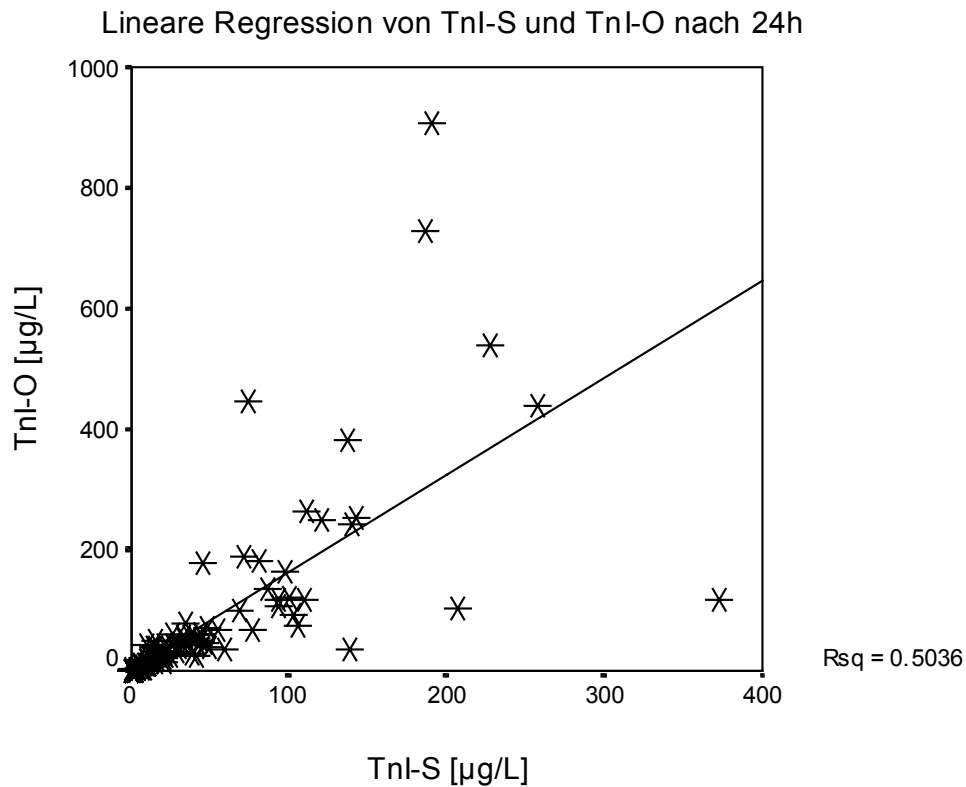
**Tabelle 12.** Auftreten kardialer Ereignissen in der Subgruppe (n=141) nach Diagnose, Troponin-Gruppen und Therapieform

	Instabile AP		Akuter Myokardinfarkt	
	Tnl (+)	Tnl (-)	keine Intervention <sup>a</sup>	Intervention <sup>a</sup>
Kombinierter EP*	64	42	67	39
AMI	7	0	6	8
Instabile Angina <sup>#</sup>	61	42	67	27
Tod	7	0	6	16

Angaben in Prozent. Die Ereignisrate lag insgesamt - bezogen auf den primären kombinierten Endpunkt (EP) - bei 50%. AP, Angina pectoris; AMI, akuter Myokardinfarkt; Tnl (+), Troponin I  $\geq 1,5\mu\text{g/L}$  mindestens einmal während der 0-24h-Probenentnahme, Tnl (-), Tnl  $< 1,5\mu\text{g/L}$ . <sup>a</sup> akute perkutane transluminale koronare Angioplastie oder systemische Thrombolysetherapie mit rekombinatem tissue plasminogen activator oder Streptokinase; \* p = 0,048; <sup>#</sup> p = 0,002, Chi-Quadrat-Test.

### Troponin I-Studie

Die linearen Korrelationskoeffizienten zwischen Tnl-S und Tnl-O waren zu jedem Meßzeitpunkt signifikant (p < 0,001): r = 0,978 (Aufnahme), 0,869 (1h), 0,909 (2h), 0,915 (4h), 0,886 (8h), 0,795 (12h) und 0,710 (24h). Die Abbildungen 8a und b zeigen die lineare Regression bei Aufnahme (siehe Abbildung 8a) und nach 24h (siehe Abbildung 8b).



**Abbildung 8a (oben) und b (unten).** Lineare Regression von TnI-S und TnI-O.

TnI-S, Stratus®II-Troponin I; TnI-O, Opus®-Troponin I; Rsq, Bestimmtheitsmaß.  
Abbildungen modifiziert nach Möckel et al.<sup>35</sup>.

Die linearen Regressionsgleichungen zu Abbildung 8a und b lauten:

- i. -  $TnI-O = 1,632 * TnI-S - 1,865$  bei Aufnahme und
- ii. -  $TnI-O = 1,606 * TnI-S + 3,520$  nach 24h

Zum Aufnahmezeitpunkt lag der mediane Myoglobinwert bei 106 (61/354) µg/L und die mediane CK bei 58 (32/143,5) U/L.

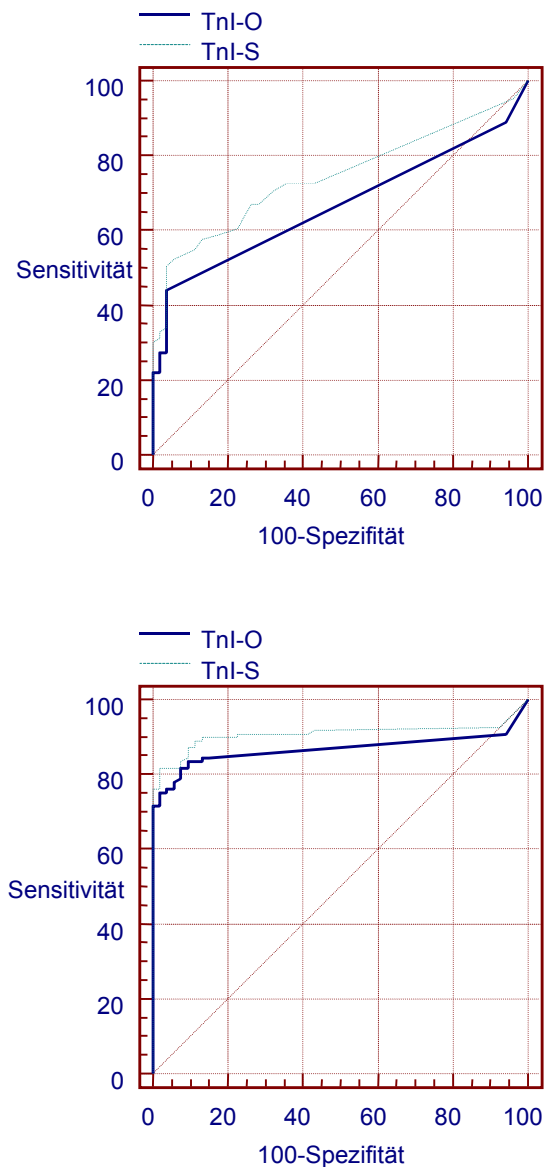
Die diagnostische Sensitivität, Spezifität und der positiv-prädiktive Wert sind in Tabelle 13 wiedergegeben. TnI-S hat eine etwas höhere Sensitivität und TnI-O eine etwas höhere Spezifität.

**Tabelle 13.** Diagnostische Sensitivität, Spezifität und positiv-prädiktiver Wert zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten für beide Troponin I-Testsysteme

		0 - 2h	2 - 4h	4 - 8h	0 - 24h <sup>#</sup>
TnI-O	SE	75	82	89	96
	SP	93	93	91	85
	PPW	95	96	95	93
TnI-S	SE	83	91	94	98
	SP	87	89	81	72
	PPW	93	94	91	88

Angaben in Prozent. TnI-S, Stratus®II-Troponin I; TnI-O, Opus®-Troponin I; SE, Sensitivität; SP, Spezifität; PPW, positiv-prädiktiver Wert. Cutoffs waren 1,6µg/L für TnI-O und 1,5µg/L für TnI-S; <sup>#</sup> kumulative Werte.

Die Abbildungen 9a und b zeigen die ROC-Kurven von TnI-S und TnI-O bei Aufnahme (siehe Abbildung 16a) und 4 Stunden später (siehe Abbildung 16b).



**Abbildung 9a (oben) und b (unten).** ROC-Kurven der beiden Troponin I-Testsysteme bei Aufnahme und nach 4h

ROC, Receiver Operating Characteristics; Tnl-O, Opus<sup>®</sup>-Troponin I; Tnl-S, Stratus<sup>®</sup> II-Troponin I.

Die Flächen unter den Kurven (AUC) und 95%-CI waren bei Aufnahme 0,743 (0,669 - 0,809) für Tnl-S und 0,665 (0,587 - 0,737) für Tnl-O sowie nach 4h 0,908 (0,853 - 0,948) für Tnl-S und 0,868 (0,806 - 0,916) für Tnl-O. Die z-Statistik zum Vergleich von ROC-Kurven mit Korrektur für abhängige Stichproben ergab keinen signifikanten



Unterschied der Kurven bei Aufnahme ( $z = 1,62$ ;  $p = 0,053$ ); nach 4h war die AUC von TnI-S signifikant größer ( $z = 1,72$ ;  $p = 0,043$ ).

Die Tabelle 14 zeigt die kardialen Ereignisse nach TnI-S- und TnI-O-Basiswerten klassifiziert.

Die Odds ratios für den primären Endpunkt im Krankenhaus und nach 6 Monaten sind in Tabelle 15 wiedergegeben. Beide Troponine sagten das ereignisfreie Überleben signifikant voraus. Die Odds ratios und 95%-CI waren 5,21 (1,12 - 24,30) für TnI-S und 4,92 (1,31 - 18,56) für TnI-O. Lediglich kumulative TnI-O-Werte sagten den primären Endpunkt im Krankenhaus vorher (siehe Tabelle 15).

Kumulativ-positive TnI-O-Werte waren signifikante Prädiktoren für die Letalität nach 6 Monaten ( $p = 0,0356$ ), Herzinsuffizienz im Krankenhaus ( $p = 0,0089$ ) und nach 6 Monaten ( $p = 0,004$ ) sowie die Notwendigkeit einer aortokoronaren Bypass-Chirurgie im Krankenhaus ( $p = 0,0414$ ) und nach 6 Monaten ( $p = 0,0341$ ). Die Entwicklung einer Herzinsuffizienz war zusätzlich signifikant vom Alter der Patienten abhängig. TnI-S sagte in ähnlicher Weise die Entwicklung einer Herzinsuffizienz nach 6 Monaten vorher ( $p = 0,0096$ ). Lediglich die Aufnahmewerte von TnI-S ( $p = 0,0120$ ) und TnI-O ( $p = 0,0362$ ) sagten eine rezidivierende instabile Angina im Krankenhaus vorher.

Als Nebenaspekt war eine thrombolytische Therapie ein signifikanter Prädiktor für eine PTCA im Krankenhaus oder nach 6 Monaten ( $p < 0,05$ ).

**Tabelle 14.** Kardiale Ereignisse, klassifiziert nach Basis-TnI-S und -TnI-O

	n=162	TnI-S (+)	TnI-S (-)	TnI-O (+)	TnI-O (-)
Primärer Endpunkt <sup>a</sup>					
im Krankenhaus	12	19	9	25	10*
nach 6 Monaten	18	25	15	33	15*
Letalität					
im Krankenhaus	9	14	7	17	8
nach 6 Monaten	15	19	13	25	14
AMI					
im Krankenhaus	5	9	3	11	4
nach 6 Monaten	6	9	4	11	5
Instabile Angina pectoris					
im Krankenhaus	19	32	13**	33	15*
nach 6 Monaten	45	51	41	53	43
Herzinsuffizienz					
im Krankenhaus	18	32	11**	33	12**
nach 6 Monaten	20	33	14**	36	14**
PTCA					
im Krankenhaus	20	21	18	11	21
nach 6 Monaten	25	26	25	14	28
Bypass-Operation					
im Krankenhaus	13	14	11	25	9*
nach 6 Monaten	17	21	14	33	14**
Rehospitalisierung	29	35	26	31	29
Krankenhausbehandlung					
ITS [d]	3 (1/5)	4 (2/6)	3 (1/4)**	3 (2/6)	3 (1/4)
Krankenhaus [d]	10 (6/17)	13 (9/24)	9 (4/14)**	12 (9/26)	10 (5/16)

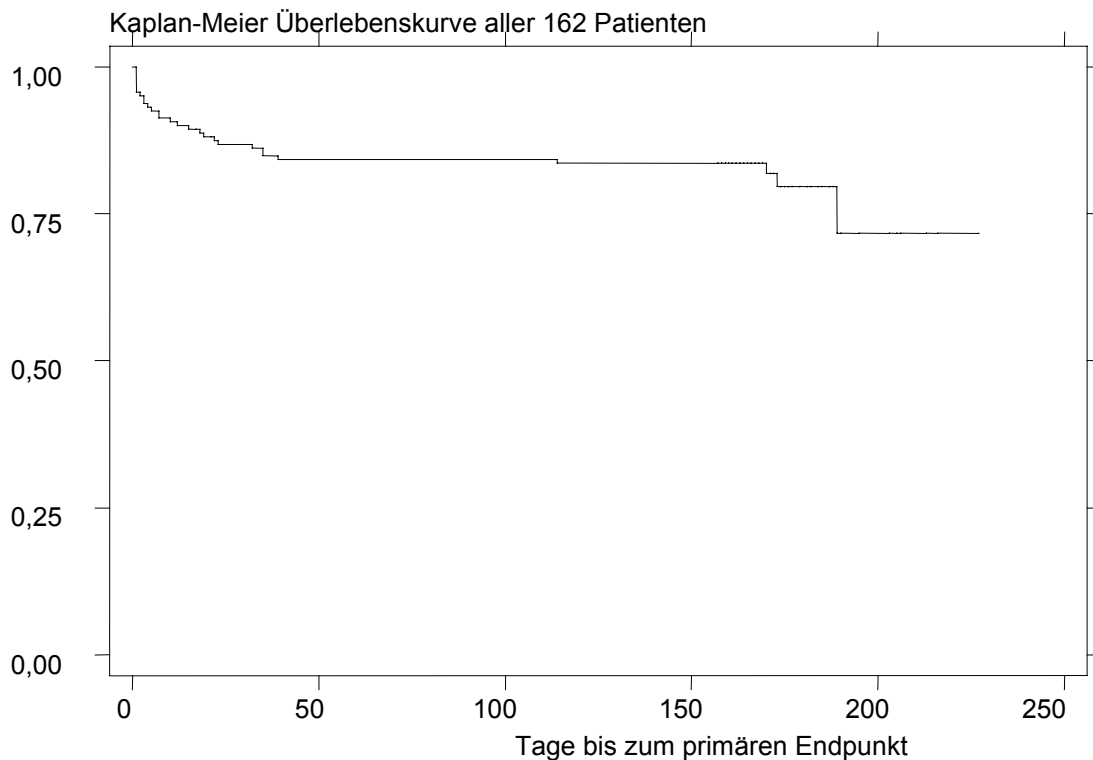
Quantitative Variablen als Median und Quartilen; qualitative Variablen in Prozent; <sup>a</sup>der primäre Endpunkt war als Kombination aus Tod oder AMI definiert; TnI-S (+), Stratus®II-Troponin I  $\geq 1,5\mu\text{g/L}$ , TnI-S (-),  $< 1,5\mu\text{g/L}$ ; TnI-O (+), Opus®plus-Troponin I  $\geq 1,6\mu\text{g/L}$ , TnI-O (-),  $< 1,6\mu\text{g/L}$  bei Aufnahme; AMI, akuter Myokardinfarkt; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie; ITS, Intensivtherapiestation; \* p < 0,05, \*\* p < 0,01 versus jeweilige (+) Gruppe.

**Tabelle 15.** Vorhersage kardialer Ereignisse durch Basis- und kumulative 24h-Troponin-Werte

	Odds ratio (OR)	95%-CI	p-Wert
<b>Primärer Endpunkt im KH<sup>a</sup></b>			
Tnl-S			
Aufnahme (+)	2,19	0,79 - 6,06	0,1298
0-24h (+)	6,03	0,73 - 49,46	0,0943
Optimaler Cutoff (+)	10,13	1,24 - 82,79	0,0309
Tnl-O			
Aufnahme (+)	2,62	0,90 - 7,58	0,0760
0-24h (+)	9,20	1,12 - 75,80	0,0391
Optimaler Cutoff (+)	13,23	1,61 - 108,63	0,0162
<b>Primärer Endpunkt bis 6 Monate<sup>a</sup></b>			
Tnl-S			
Aufnahme (+)	1,65	0,70 - 3,89	0,2511
0-24h (+)	5,21	1,12 - 24,30	0,0356
Optimaler Cutoff (+)	9,14	1,95 - 42,76	0,0050
Tnl-O			
Aufnahme (+)	2,40	0,97 - 5,97	0,0586
0-24h (+)	4,92	1,31 - 18,56	0,0186
Optimaler Cutoff (+)	7,26	1,93 - 27,39	0,0034

<sup>a</sup> Der primäre Endpunkt war als Kombination aus Tod oder akutem Myokardinfarkt definiert. CI, Konfidenz-Intervall; KH, Krankenhaus; Tnl-S (+), Stratus®II-Troponin I  $\geq 1,5\mu\text{g/L}$ , Tnl-S (-),  $< 1,5\mu\text{g/L}$ ; Tnl-O (+), Opus®plus-Troponin I  $\geq 1,6\mu\text{g/L}$ , Tnl-O (-),  $< 1,6\mu\text{g/L}$  bei Aufnahme oder mindestens einmal während der Zeit der Probengewinnung (0 - 24h). Optimale Cutoffs für 0-24h-Werte waren die mit der besten OR:  $3,7\mu\text{g/L}$  für Tnl-S und  $4,4\mu\text{g/L}$  für Tnl-O.

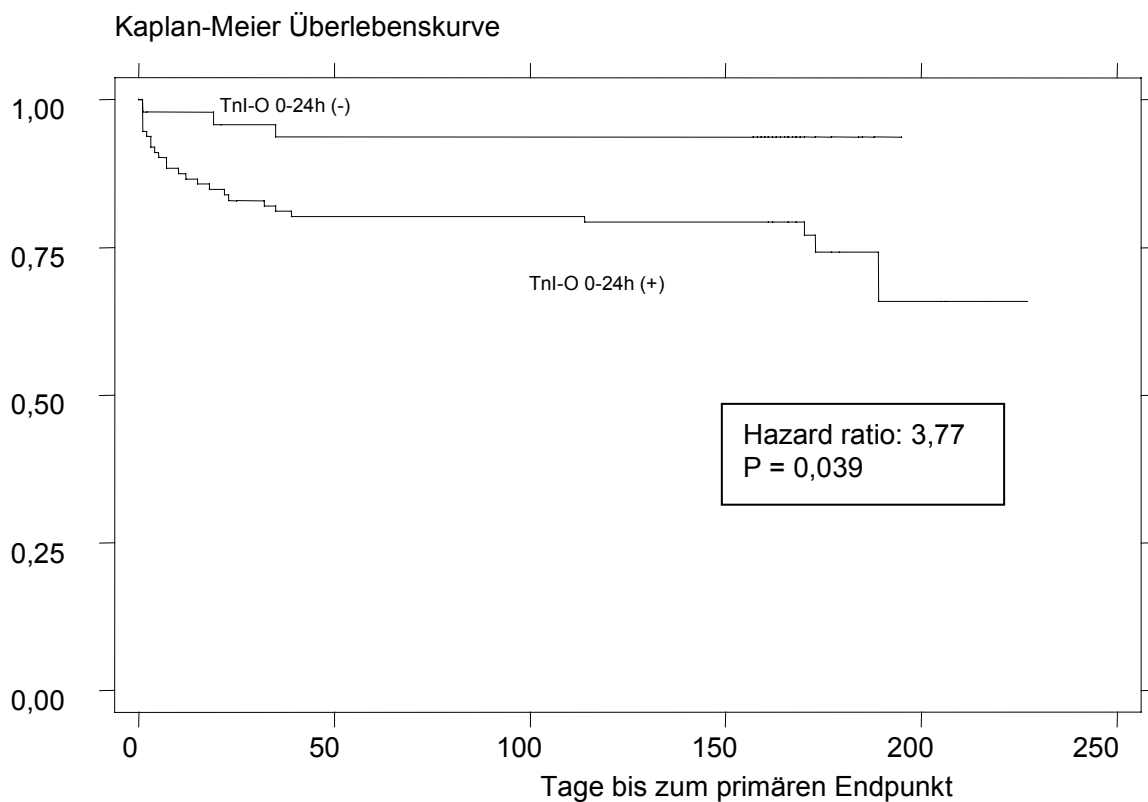
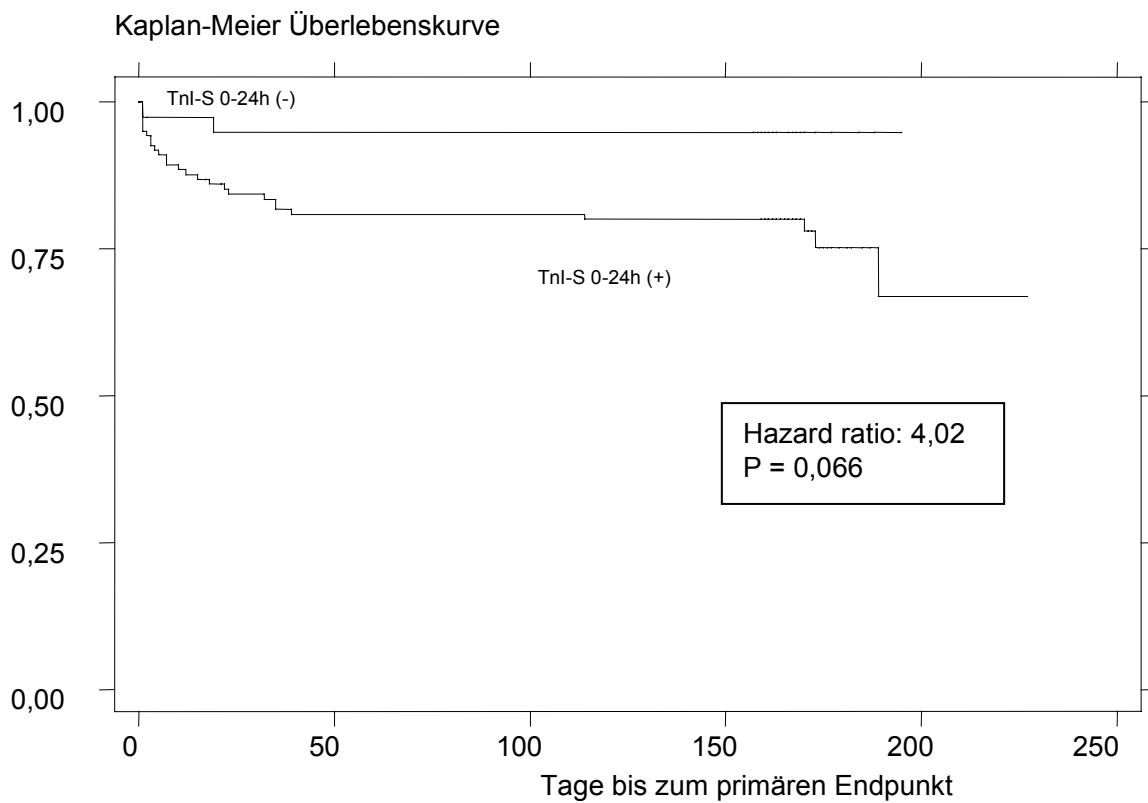
Die Abbildung 10 zeigt die kumulative Verteilung des ereignisfreien Überlebens in Bezug auf den primären Endpunkt.



**Abbildung 10.** Kaplan-Meier-Kurve aller 162 Patienten

Die Abbildungen 11a und b veranschaulichen die kardialen Ereignisse für TnI-S (+) bzw. (-) (siehe Abbildung 11a) und TnI-O (+) bzw. (-) Patienten (siehe Abbildung 11b). Die Cox-Regression ergab eine Hazard ratio von 4,02 (95%-CI: 0,91-17,73;  $p = 0,066$ ) für TnI-S und 3,77 (95%-CI: 1,07-13,31;  $p = 0,039$ ) für TnI-O.

Die logistische Regression mit der Zielvariable des primären Endpunkts im Krankenhaus und nach 6 Monaten wurde mit verschiedenen Cutoffs durchgeführt. Die höchsten Odds ratios wurden mit den folgenden Cutoffs erzielt: 3,7µg/L für TnI-S und 4,4µg/L für TnI-O (siehe auch Tabelle 15). Wurden diese optimalen Cutoffs in der Cox-Regression verwendet, ergaben sich folgende Hazards: 6,74 (95%-CI: 1,53-29,67,  $p = 0,012$ ) für TnI-S und 5,57 (95%-CI: 1,59-19,56,  $p = 0,007$ ) für TnI-O.



**Abbildung 11a** (oben) und **b** (unten).

## **Troponin T-Studie**

Die Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse der Laboruntersuchungen sowie die Wahrscheinlichkeit eines ungünstigen klinischen Ereignisses während der Krankenhausbehandlung. Troponin T-positive Patienten [TnT (+)] hatten ein signifikant erhöhtes Risiko für einen AMI ( $p < 0,001$ ) oder jegliches Ereignis (kombinierter primärer Endpunkt,  $p = 0,013$ ) als Troponin T-negative Patienten [TnT (-)]. TnT (+) Patienten erlitten einen AMI mit einer Häufigkeit von 64% (95%-CI: 31%-89%), ein Patient verstarb. Im Gegensatz dazu erlitten nur 7% (95%-CI: 3%-15%) der Patienten in der TnT (-) Gruppe einen AMI im Krankenhaus.

Die logistische Regression mit der Zielvariable AMI im Krankenhaus, kontrolliert für Alter, Geschlecht, anamnestisch bekannte koronare Herzerkrankung, ST-T-Veränderungen im EKG und TnT, ergaben einen unabhängigen Einfluß von TnT allein (Odds ratio 22,0; 95%-CI 4,2 - 115,7;  $p < 0,001$ ). TnT war ebenfalls prädiktiv für die kumulative AMI-Inzidenz im Follow up nach drei Monaten (Odds ratio 14,4; 95%-CI 3,0 - 68,4;  $p = 0,001$ ) oder 6 Monaten (Odds ratio 12,7; 95%-CI 2,7 - 59,1;  $p = 0,01$ ). Kardiovaskuläre Ereignisse (kombinierter Endpunkt) im Krankenhaus wurden durch TnT vorausgesagt (Odds ratio 8,9; 95%-CI 1,6 - 48,8;  $p = 0,012$ ). TnT war prädiktiv für die kumulative Inzidenz des primären Endpunkts im Follow up nach drei Monaten (Odds ratio 10,0; 95%-CI 1,1 - 89,6;  $p = 0,039$ ) und nach 6 Monaten (Odds ratio 9,3; 95%-CI 1,03 - 84,4;  $p = 0,047$ ). Die Abbildung 12 zeigt das ereignisfreie Überleben der Patienten.

### Ereignisfreies Überleben der Troponin T (+)/(-)-Patienten

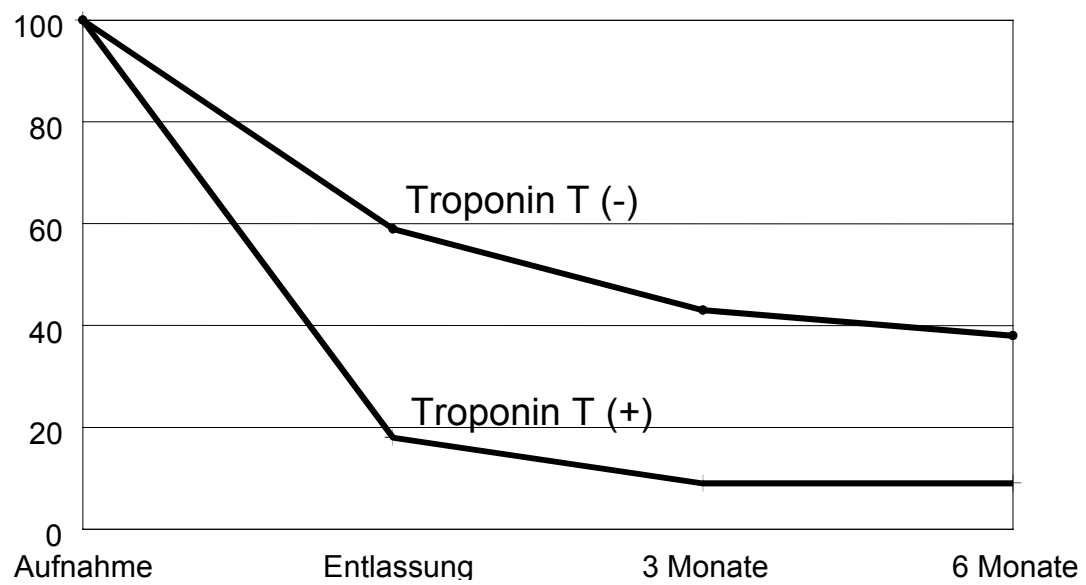


Abbildung 12.

**Tabelle 16.** Ergebnisse während der Krankenhausbehandlung: Laborwerte bei Aufnahme (Ausnahme: TnT nach 4h), kardiovaskuläre Ereignisse und wesentliche diagnostische Ergebnisse der 106 Patienten

Variable	TnT (+) (n = 11)	TnT (-) (n = 95)
TnT [ $\mu\text{g/L}$ ]	0,58 (0,02 - 1,69) <sup>a</sup>	0 (0 - 0,18)**
CK [U/L]	63 (22 - 146)	36,5 (7 - 161)
CK-MB [U/L]	<sup>b</sup>	7,5 (2 - 18) <sup>b</sup>
Myoglobin [ $\mu\text{g/L}$ ]	55 (49 - 440)	49 (49 - 391)*
Kreatinin [mg/dl]	1,0 (0,8 - 1,2)	1,1 (0,6 - 2,8)
Leukozytenzahl [1/nl]	12,8 (7,9 - 19,0)	8,9 (4,9 - 14,4)**
Klinische Ereignisse	82 (48 - 98)	41 (31 - 52)*
AMI	64 (31 - 89)	7 (3 - 15)**
Arrhythmie	27 (6 - 61)	24 (16 - 35)
Herzinsuffizienz	9 (0 - 41)	2 (0 - 7)
Tod	9 (0 - 41)	--
Koronarangiographie	64 (31 - 89)	61 (51 - 71)
Keine KHK	--	15 (8 - 24)
Eingefäßerkrankung	27 (6 - 61)	16 (9 - 25)
Zweigegefäßerkrankung	18 (2 - 52)	12 (6 - 20)
Dreigegefäßerkrankung	18 (2 - 52)	19 (12 - 28)
Interventionen	18 (2 - 52)	25 (17 - 35)
ACVB	9 (0 - 41)	5 (2 - 12)
PTCA	9 (0 - 41)	20 (13 - 30)
AP vor Aufnahme [h]	8 (1 - 48)	5 (0,5 - 480)
KHK	100 (72 - 100) <sup>+</sup>	76 (66 - 84)

Quantitative Variablen als Median und Range; qualitative Variablen in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen (CI); TnT, kardiales Troponin T; CK, Kreatinkinase; CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB; AMI, akuter Myokardinfarkt; KHK, koronare Herzerkrankung; ACVB, aortokoronare Venen-Bypass-Operation; PTCA, perkutane transluminale koronare Angioplastie; AP, Angina pectoris; <sup>a</sup> 7 Patienten hatten Werte > 0,2 $\mu\text{g/L}$  bei Aufnahme, ein Patient war lediglich bei Aufnahme TnT (+); <sup>b</sup> CK-MB wurde nicht gemessen, wenn die CK unter 100U/L lag; zwei TnT (+) Patienten hatten 15 bzw. 17U/L CK-MB-Aktivität; bei den TnT (-) wurde die CK-MB in insgesamt 14 Proben bestimmt; \* p < 0,05; \*\* p < 0,001; <sup>+</sup> einseitiges 97,5%-CI.



Im 3- und 6-Monats-Follow up war die Ereignisrate lediglich im Hinblick auf die Wiederaufnahme ins Krankenhaus der TnT (+) Patienten nach drei Monaten signifikant ( $p = 0,042$ ). Keiner der TnT (+) Patienten hatte einen weiteren AMI und kein Patient verstarb. Zwei Patienten der TnT (-) Gruppe erlitten einen AMI innerhalb der ersten drei Monate nach Entlassung, ein Patient verstarb am AMI, ein weiterer nach elektiver aortokoronarer Bypass-Operation. Ein weiterer TnT (-) Patient verstarb an einem AMI innerhalb der folgenden drei Monate (6-Monats-Follow up). Die Tabelle 17a zeigt die Ereignisse des Follow ups nach Entlassung aus dem Krankenhaus im einzelnen, die Tabelle 17b zeigt die kumulative Ereignisrate. Der negativ-prädiktive Wert der TnT-Messung hinsichtlich eines AMI lag bei 93% für die Zeit der Krankenhausbehandlung, bei 98% für die ersten drei Monate nach Entlassung und bei 99% bis einschließlich des 6. Monats nach Entlassung.

#### Tabellen 17 a und b.

**Tabelle 17a.** Kardiovaskuläre Ereignisse (KARD-E) während des Follow ups

	3-Monats-Follow up		6-Monats-Follow up	
	TnT (+)	TnT (-)	TnT (+)	TnT (-)
KARD-E	44 (14 - 79)	27 (18 - 37)	13 (0 - 53)	17 (10 - 27)
AMI	--	2 (0 - 8)	--	1 (0 - 7)
Tod	--	2 (0 - 8)	--	1 (0 - 7)
Instabile AP	11 (0 - 48)	21 (13 - 31)	13 (0 - 53)	12 (6 - 21)
RE-HOSP	44 (14 - 79)*	14 (8 - 23)	--	7 (3 - 15)

Angaben in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; TnT, kardiales Troponin T; AMI, akuter Myokardinfarkt; AP, Angina pectoris; RE-HOSP, Wiederaufnahme in ein Krankenhaus wegen kardialer Erkrankung nach Entlassung im Anschluß an das Indexereignis; \*  $p = 0,042$  aus der logistischen Regression für die Vorhersage durch TnT.

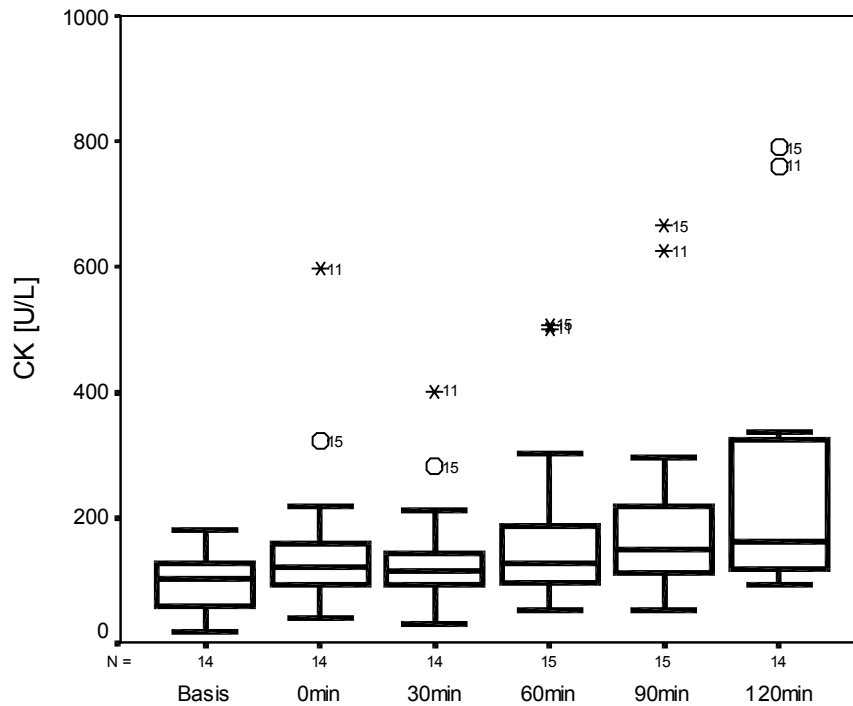
**Tabelle 17b.** Kumulative kardiovaskuläre Ereignisse (KARD-E-C)

	Aufnahme bis 3-Monats-Follow up		Aufnahme bis 6-Monats-Follow up	
	TnT (+)	TnT (-)	TnT (+)	TnT (-)
KARD-E-C	91 (59 - 100)*	57 (46 - 67)	91 (59 - 100)*	61 (51 - 72)
AMI	64 (31 - 89)*	10 (5 - 19)	64 (31 - 89)*	12 (6 - 21)
Tod	10 (0 - 44)	2 (0 - 7)	11 (0 - 48)	3 (1 - 9)
Instabile AP	11 (0 - 48)	21 (13 - 31)	13 (0 - 53)	21 (13 - 31)
RE-HOSP	44 (14 - 79)*	14 (8 - 23)	44 (14 - 79)	20 (11 - 29)

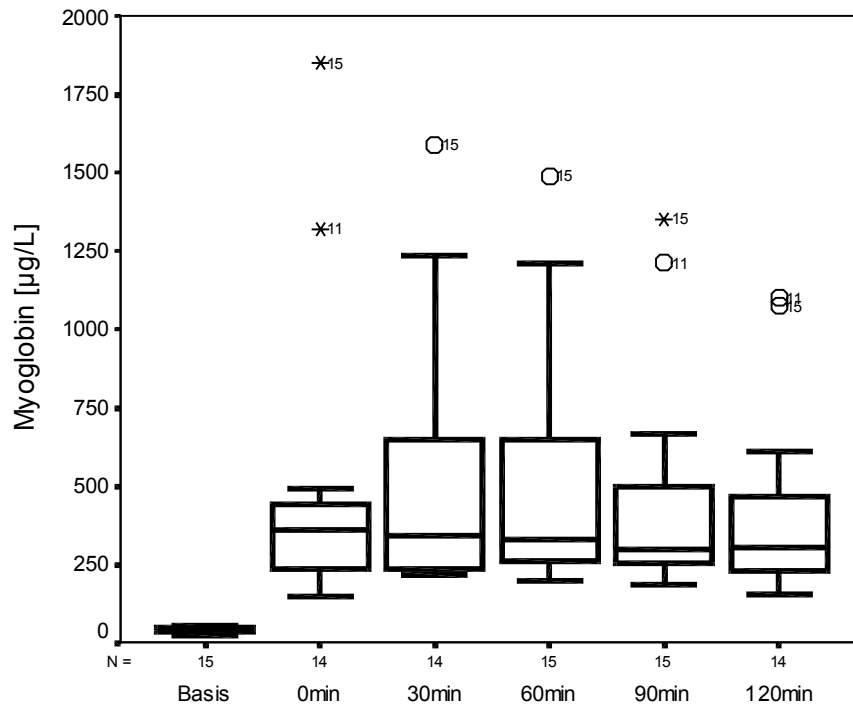
Angaben in Prozent und 95%-Konfidenz-Intervallen; TnT, kardiales Troponin T; AMI, akuter Myokardinfarkt; AP, Angina pectoris; RE-HOSP, Wiederaufnahme in ein Krankenhaus wegen kardialer Erkrankung nach Entlassung im Anschluß an das Indexereignis; \*  $p < 0,05$  aus der logistischen Regression für die Vorhersage durch TnT.

### 3.2 Untersuchungen an Gesunden

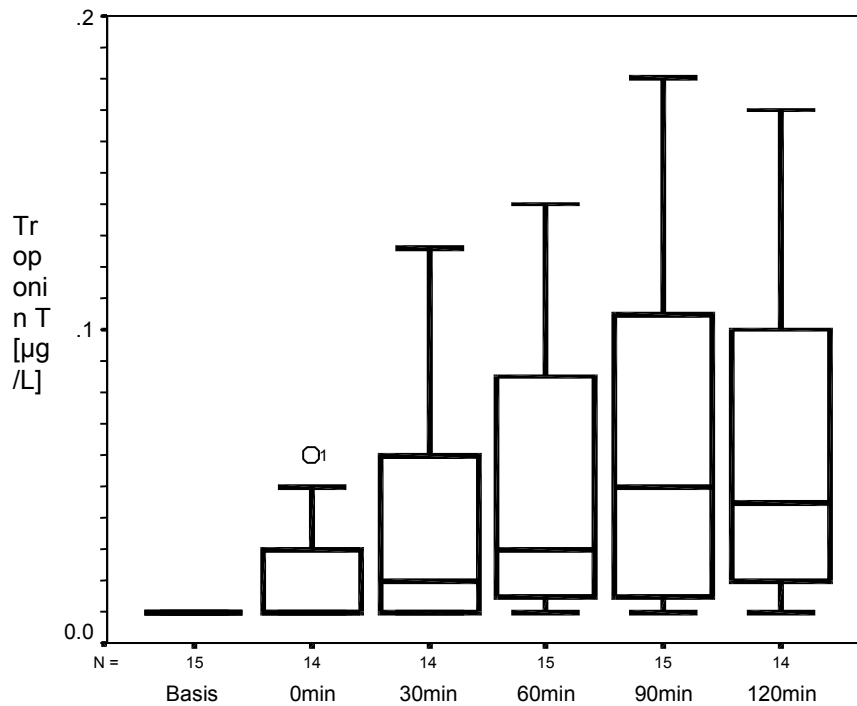
Die Abbildungen 13-16 zeigen den Verlauf der Marker über die Zeit. Zur Darstellung siehe Abschnitt 2.4. Insbesondere am Ende der Beobachtungsphase wurden Troponin-Werte über dem Cutoff eines MMD gemessen. Ausreißerwerte wurden mit Identifikationsnummern versehen, um individuelle Verläufe aufzuzeigen. Tabelle 18 zeigt die Probanden mit Troponin T-Erhöhungen (mindestens ein Wert  $\geq 0,1\mu\text{g/L}$ ) und deren weitere Laborbefunde. Es konnten keine Besonderheiten bei diesen Probanden ausgemacht werden. Die Troponin I-Messungen erfolgten mit dem Opus<sup>®</sup>plus-System.



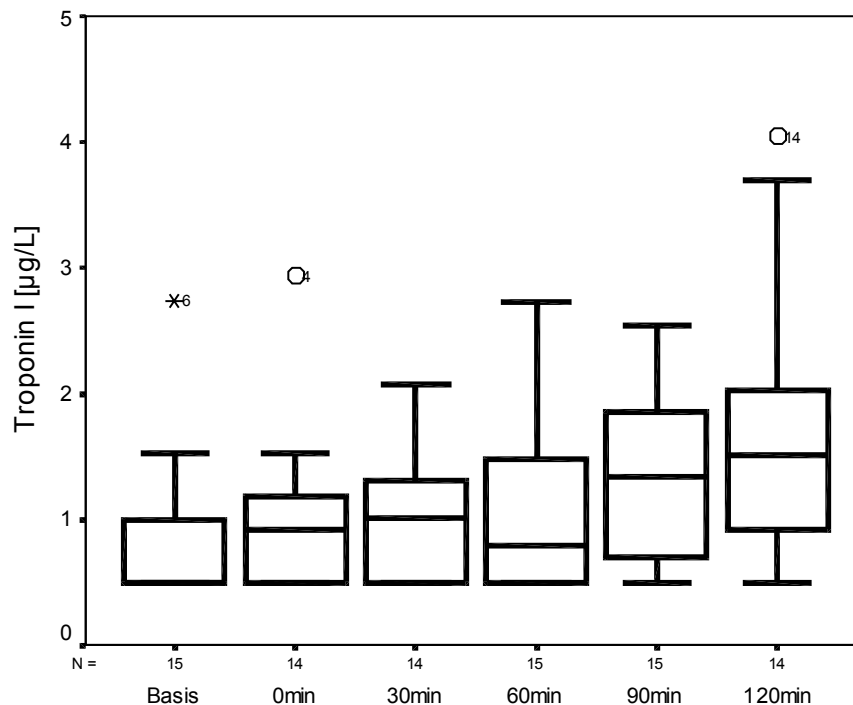
**Abbildung 13.** Verlauf der Kreatinkinase bei 15 männlichen Probanden vor und nach einem Triathlon-Wettkampf ( $p < 0,001$ , Friedman Test)



**Abbildung 14.** Verlauf des Myoglobins bei 15 männlichen Probanden vor und nach einem Triathlon-Wettkampf ( $p < 0,001$ , Friedman Test)



**Abbildung 15.** Verlauf von Troponin T bei 15 männlichen Probanden vor und nach einem Triathlon-Wettkampf ( $p < 0,001$ , Friedman Test)



**Abbildung 16.** Verlauf von Troponin I bei 15 männlichen Probanden vor und nach einem Triathlon-Wettkampf ( $p = 0,082$ , Friedman Test)

**Tabelle 18.** Probanden mit mindestens einem Troponin T-Wert  $\geq 0,1\mu\text{g/L}$ 

ID	TnT	TnI	Alter <sup>a</sup>	Leukos <sup>b</sup>	KREA <sup>c</sup>	HF <sup>d</sup>
1	0,18	1,52	39	6,30	0,99	68
5	0,10	3,69	25	---	1,02	60
10	0,13	1,27	25	5,35	0,87	52
11	0,10	1,55	23	4,90	0,70	52
13	0,12	2,54	25	4,93	0,91	60
14	0,13	2,16	28	7,67	0,95	76
15	0,12	4,04	22	6,60	0,95	52

ID, Probandennummer; TnT, maximaler Troponin T-Wert [ $\mu\text{g/L}$ ]; TnI, maximaler TnI-Wert [ $\mu\text{g/L}$ ]; <sup>a</sup> in Jahren; <sup>b</sup> Leukozytenzahl in Ruhe [ $1/\text{nL}$ ]; <sup>c</sup> Basis-Kreatininwert [ $\text{mg/dL}$ ]; <sup>d</sup> Ruhe-Herzfrequenz [ $1/\text{min}$ ]. Die TnI-Werte über dem Cutoff von  $\geq 1,6\mu\text{g/L}$  sind hervorgehoben.

### 3.3 Untersuchungen an Patienten mit Niereninsuffizienz

Die Konzentrationen der kardialen Marker sind in Tabelle 19 wiedergegeben.

**Tabelle 19.** Kardiale Marker bei Patienten mit chronischer präterminaler (n=20) und terminaler (n=20) Niereninsuffizienz

Variable	ESRD (n = 20)		Pre-ESRD (n = 20)
	vor HD	nach HD	
<b>Kreatinkinase [U/L]</b>	13 (5 - 116)	13 (6 - 87)	25,5 (3 - 80)
CK-MB [U/L]	0 (0 - 6)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)
Myoglobin [µg/L]	148,5 (58 - 496)	148,5 (75 - 438)	94,5 (52 - 284)*
Troponin T [µg/L]	0,043 (0 - 1,6)	0,053 (0 - 1,85)	0,035 (0 - 0,273)
Troponin I (TnI-S) [µg/L]	0,1 (0 - 1,9)	0,15 (0 - 2)	0 (0 - 4,1)
Troponin I (TnI-O) [µg/L]	0 (0 - 8,78)	0 (0 - 12,6)	0 (0 - 4,64)

Angaben als Median und Range; ESRD, end stage renal disease; HD, Hämodialysetherapie; CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB; TnI-S, Stratus® II-Troponin I; TnI-O, Opus® plus-Troponin I; \* p = 0,0498 versus ESRD.

Die verwendete Dialysemembran hatte keinen Einfluß auf die Konzentrationen der kardialen Marker. Die Werte vor und nach Dialyse waren nicht signifikant verschieden. Die Patienten mit ESRD unterschieden sich nur hinsichtlich der Myoglobinwerte signifikant von den Pre-ESRD-Patienten (siehe Tabelle 19).

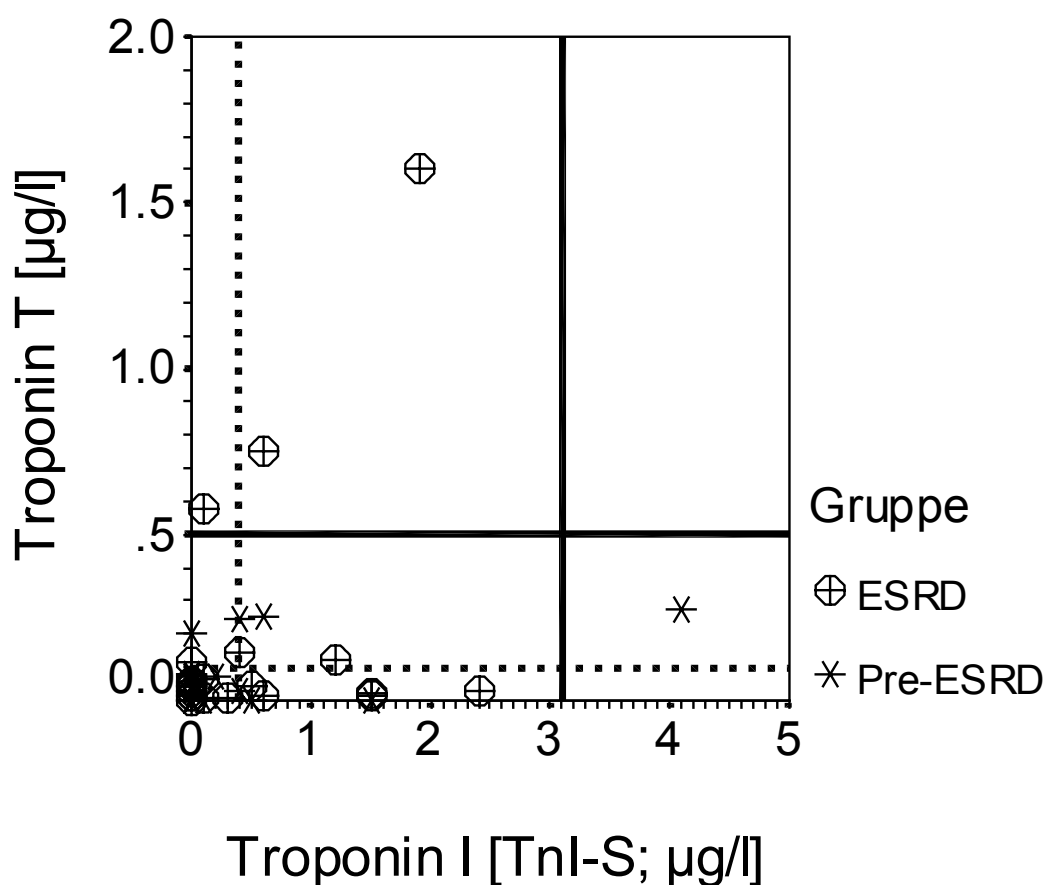
Bei 11 Patienten kamen Low-Flux Dialyse-Membranen zum Einsatz (Cuprophane, n = 3; Polycarbonat, n = 2; Hemophan, n = 2; Polysulfon, n = 4) und bei den verbleibenden 9 Patienten High-Flux-Membranen (Polysulfon, n = 3; Polyamid, n = 6). Die Tabelle 20 zeigt die Häufigkeit von Troponin-Testergebnissen über den jeweiligen Cutoffs. In der Gruppe der Dialysepatienten bedeutet ein Troponin-positives Testergebnis, daß mindestens ein Wert vor oder nach Dialysetherapie über dem jeweiligen Cutoff gefunden wurde.

**Tabelle 20.** Positive Troponin-Testergebnisse in Abhängigkeit von den verschiedenen vordefinierten Cutoffs

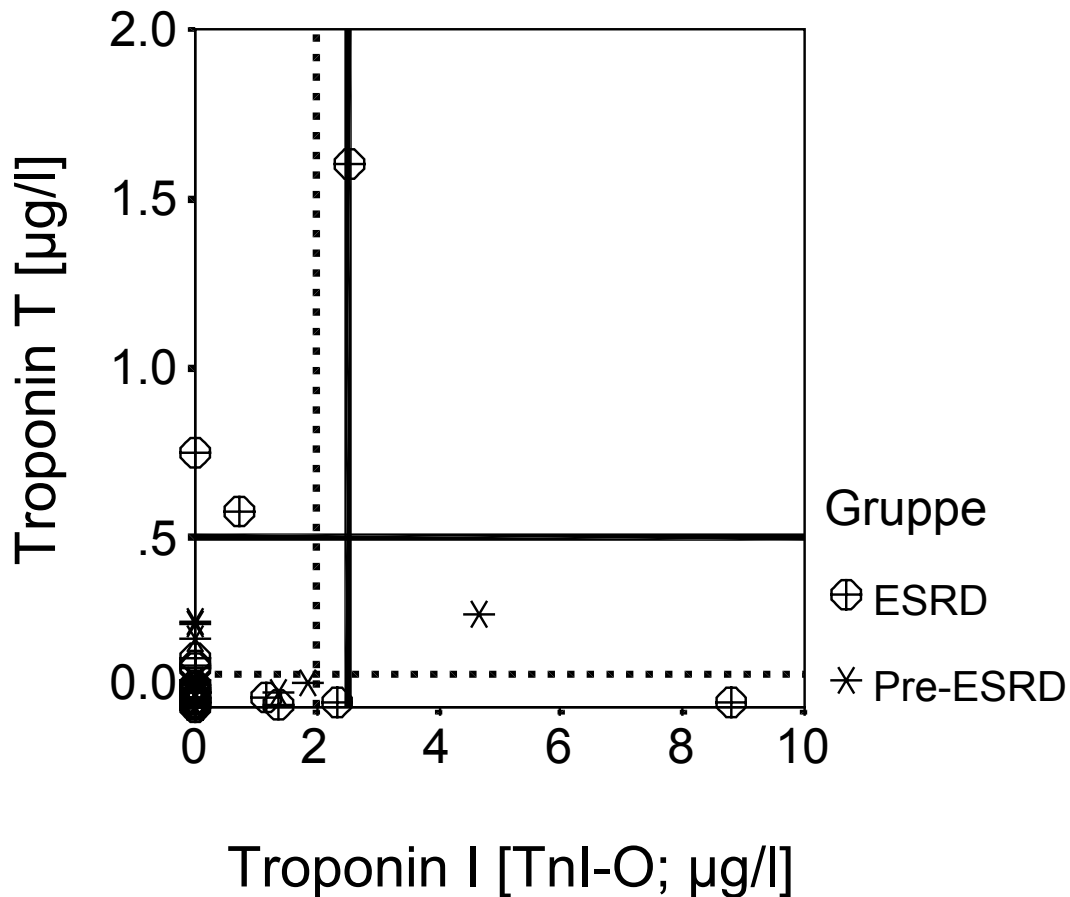
Variable	TnI-S			TnI-O			TnT		
Cutoff [ $\mu\text{g/L}$ ]	0,4	1,5	3,1	1,6	2,0	2,5	0,1	0,2	0,5
ESRD	55	10	0	15	15	10	30	15	15
Pre-ESRD	20*	5	5	10	5	5	20	20	20

Angaben in Prozent; TnI-S, Stratus<sup>®</sup>II-Troponin I; TnI-O, Opus<sup>®</sup>plus-Troponin I; TnT, Troponin T; ESRD, end stage renal disease; \*  $p < 0,05$  versus ESRD.

Die diagnostische Bedeutung der Troponin-Testergebnisse in Relation zueinander ist in den Abbildungen 17 und 18 dargestellt. Troponin T-Werte sind gegen TnI-S (siehe Abbildung 17) und gegen TnI-O (siehe Abbildung 18) aufgetragen.



**Abbildung 17.** Troponin T versus Stratus<sup>®</sup>II-Troponin I (TnI-S)



**Abbildung 18.** Troponin T versus Opus<sup>®</sup>plus-Troponin I (TnI-O)

ESRD, end stage renal disease. Die Schwellenwerte für minor myocardial damage sind durch gepunktete Linien, für den akuten Myokardinfarkt durch durchgehende Linien markiert.

In der Tabelle 21 sind die Einzelwerte von 7 Patienten (18%) aufgeführt, die in der Nachbeobachtungszeit einen AMI erlitten oder verstarben. 22 Patienten (55%) wurden erneut stationär aufgenommen; bei 5 (13%) dieser Patienten lagen kardiale Gründe vor (AMI, Lungenödem, Hypotension, Pleuraerguß).

Unter Verwendung der oben definierten verschiedenen Cutoff-Werte zeigte die logistische Regression keine signifikante Vorhersage des primären Endpunktes durch die verschiedenen Troponin-Werte. Kontrollvariablen waren: Alter, Geschlecht und Patientengruppe (ESRD oder pre-ESRD). Die Odds Ratios unter Verwendung der jeweils niedrigsten Cutoffs waren (95%-CI): 4,57 (0,4 - 52;  $p = 0,22$ ) für TnI-O,



3,22 (0,6 - 17;  $p = 0,168$ ) für TnI-S und 1,03 (0,18 - 5,9;  $p = 0,969$ ) für TnT. Die Analyse der drei Komponenten des primären Endpunktes allein oder die Kombination von jeweils zwei Ereignistypen zeigten ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse.

**Tabelle 21.** Troponin-Einzelwerte der 7 Patienten mit AMI oder Tod

Patient	Gruppe	Tod	Todesursache	AMI	TnI-S [ $\mu\text{g/L}$ ]	TnI-O [ $\mu\text{g/L}$ ]	TnT [ $\mu\text{g/L}$ ]
SK	HD	ja	AMI	Ja	<0,35/<0,35	<b>2,31</b> / <b>&lt;0,5</b>	0,012/0,012
ZH	ØHD	nein	---	Ja	<0,35	<0,5	<0,01
AH	ØHD	ja	SD	Nein	<0,35	1,35	0,041
SI	ØHD	ja	Pneumonie	Nein	<0,35	<0,5	0,083
RI	ØHD	nein	---	Ja	<b>0,6</b>	<0,5	<b>0,252</b>
SG	ØHD	ja	ICB	Nein	<0,35	<0,5	<0,01
LH	ØHD	ja	ICB	Nein	<b>4,1</b>	<b>4,64</b>	<b>0,273</b>

AMI, gesicherter akuter Myokardinfarkt (WHO-Kriterien); TnI-S, Stratus®II-Troponin I; TnI-O, Opus®plus-Troponin I; TnT, Troponin T; HD, Hämodialyse (Werte vor/nach); ØHD, keine HD; SD, plötzlicher Herztod; ICB, intrakranielle Blutung; Werte über dem Cutoff eines minor myocardial damage sind hervorgehoben.

Die Kreatinin-Clearance korrelierte lediglich mit TnI-S ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,023$ ). Weniger als 50% der TnI-S Werte lagen dabei oberhalb der analytischen Nachweisgrenze. Die Signifikanz des Korrelationskoeffizienten beruht auf einem Extremwert mit hoher Kreatinin-Clearance und hohem TnI. Daher wurde diese positive Korrelation als nicht relevant eingeordnet.

### 3.4 Tierexperimentelle Ergebnisse

#### Hämodynamik und Verlauf der Experimente

Die Tabellen 22 a bis e zeigen den Ablauf der Experimente bei 5 Versuchstieren in Hinblick auf die Herzfrequenz, den arteriellen Blutdruck, das Herzzeitvolumen, die gemischtvenöse Sauerstoffsättigung, den zentralen Venendruck und die laufende Volumensubstitution. Das erste Versuchstier mußte, wie oben (siehe Abschnitt Methodik) beschrieben, vorzeitig getötet werden, da eine Stabilisierung nach Myokardischämie nicht möglich war. Die Tiere Nummer 3 und 5 wurden erfolgreich bei Kammerflimmern in der Reperfusionsphase reanimiert.

**Tabellen 22a bis e.** Verlauf der Hämodynamik bei den 5 Versuchstieren

**Tabelle 22a, Tier 1**

BE	Zeit	HF	RR	HZV	SvO2	ZVD	Volumen
1	16:20	110	105/75	5,3	n.v.	17	16,6
2	16:50	120	100/80	6,1	n.v.	16	14,2
3	18:00	125	110/65	4,6	88	17	27,7
4	18:30	100	70/40	n.v.	83	21	33,4

**Tabelle 22b, Tier 2**

BE	Zeit	HF	RR	HZV	SvO2	ZVD	Volumen
1	14:10	130	75/50	5,5	98	17	11,1
2	14:50	130	95/55	5,1	99	16	11,1
3	15:30	120	60/40	3,8	98	16	6,1
4	16:00	120	100/60	5,2	98	17	4,7
5	16:30	125	100/60	6,8	99	15	8,9
6	17:00	135	100/60	6,5	99	11	11
7	17:30	99	100/55	n.v.	96	23	17,9
8	18:00	120	100/60	n.v.	95	19	14,7
9	18:30	110	95/50	n.v.	94	18	14,7
10	19:00	110	85/45	n.v.	92	18	14,7
11	19:30	110	80/40	n.v.	91	13	14,7

Legende siehe unten.

**Tabelle 22c, Tier 3**

<b>BE</b>	<b>Zeit</b>	<b>HF</b>	<b>RR</b>	<b>HZV</b>	<b>SvO2</b>	<b>ZVD</b>	<b>Volumen</b>
1	13:40	130	100/70	6,6	100	6	67
2	16:00	125	90/70	5,4	100	5	10
3	16:40	130	55/30	3,6	97	1	10
4	17:00	130	<50	n.v.	97	1	6,6
5	17:15	135	<50	n.v.	96	1	14,2
6	17:45	150	95/65	5,9	100	1	14,2
7	18:15	125	70/50	4	98	6	14,2
8	18:45	135	90/45	8,2	100	4	20
9	19:15	130	90/45	6,5	98	4	20
10	19:45	135	90/50	6,8	98	5	20
11	20:15	130	85/45	6,3	97	3	16,6

**Tabelle 22d, Tier 4**

<b>BE</b>	<b>Zeit</b>	<b>HF</b>	<b>RR</b>	<b>HZV</b>	<b>SvO2</b>	<b>ZVD</b>	<b>Volumen</b>
1	14:30	125	105/70	n.v.	n.v.	8	11,1
2	15:16	115	95/65	n.v.	n.v.	7	8,8
3	15:50	105	95/65	n.v.	n.v.	7	7,6
4	16:22	110	90/65	n.v.	n.v.	7	6,6
5	16:52	105	90/60	n.v.	n.v.	6	6,6
6	17:22	105	90/60	n.v.	n.v.	5	4,6
7	17:52	95	80/50	3,8	n.v.	6	16,6
8	18:22	110	120/80	4,6	n.v.	8	16,6
9	18:52	130	110/70	4,6	n.v.	8	16,6
10	19:22	135	115/75	5	n.v.	9	12,5
11	19:52	100	70/40	5,8	n.v.	13	12,5

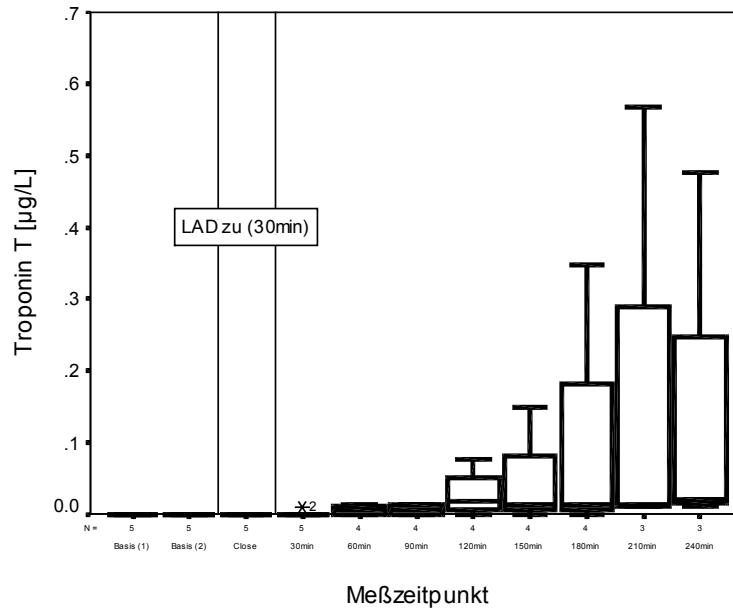
**Tabelle 22e, Tier 5**

<b>BE</b>	<b>Zeit</b>	<b>HF</b>	<b>RR</b>	<b>HZV</b>	<b>SvO2</b>	<b>ZVD</b>	<b>Volumen</b>
1	13:34	90	105/55	5,2	99	7	9,6
2	14:30	85	105/60	4,3	99	9	16,6
3	15:15	160	100/50	5,2	98	10	42,8
4	15:47	125	75/40	7,2	96	9	31,1
5	16:17	140	120/60	6,9	96	10	31,1
6	16:47	115	90/45	7,2	98	9	11,1
7	17:17	110	85/45	6,8	98	10	11,1
8	17:47	100	95/50	4,7	98	7	11,1
9	18:17	90	90/50	4,4	99	7	11,1
10	18:47	85	100/55	4,3	96	8	11,1
11	19:17	85	90/55	4	96	7	11,1

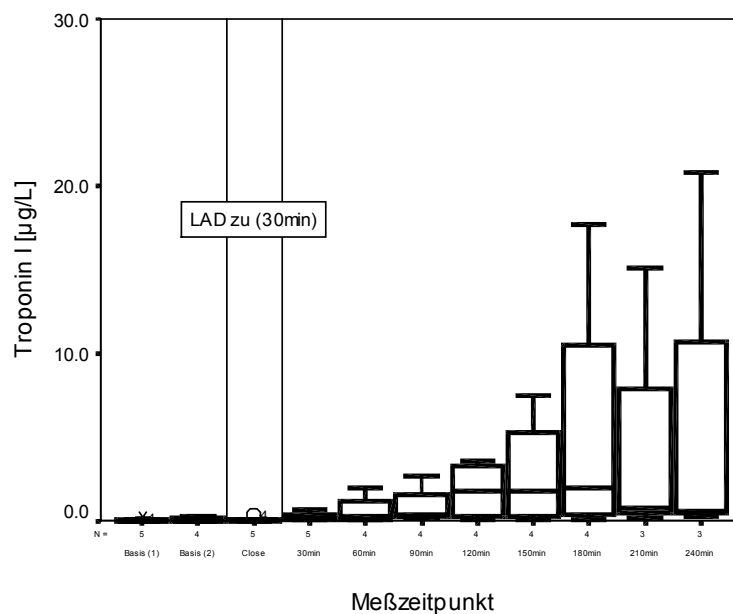
BE, Blutentnahme; Zeit, Originalzeitregistrierung (Echtzeit); HF, Herzfrequenz [1/min]; RR, arterieller Blutdruck [mmHg]; HZV, Herzzeitvolumen [L/min]; SvO2, gemischtvenöse Sauerstoffsättigung [%]; ZVD, zentraler Venendruck [mmHg]; Volumen, zugeführtes Volumen [mL/min]; n.v., nicht verfügbar.

## Laborbefunde

Die Abbildungen 19 a und b zeigen die Werte von Troponin T (a) und I (b) der 5 Versuchstiere.



**Abbildung 19a.** Verlauf der Troponin T-Werte bei den 5 Versuchstieren

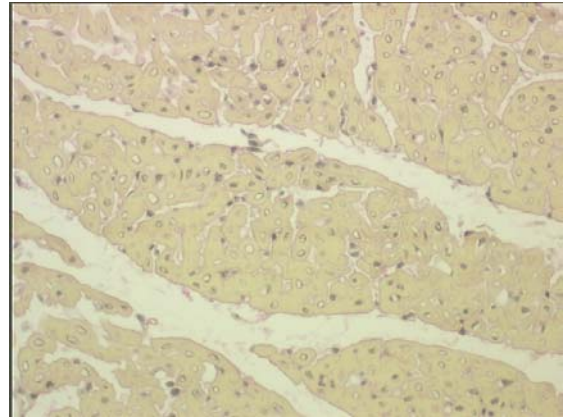
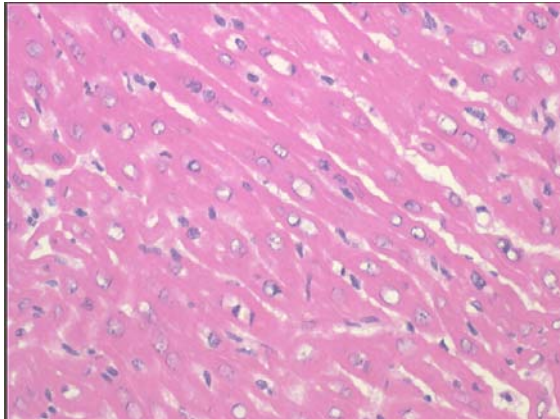


LAD, left anterior descending artery.

**Abbildung 19b.** Verlauf der Troponin I-Werte bei den 5 Versuchstieren.

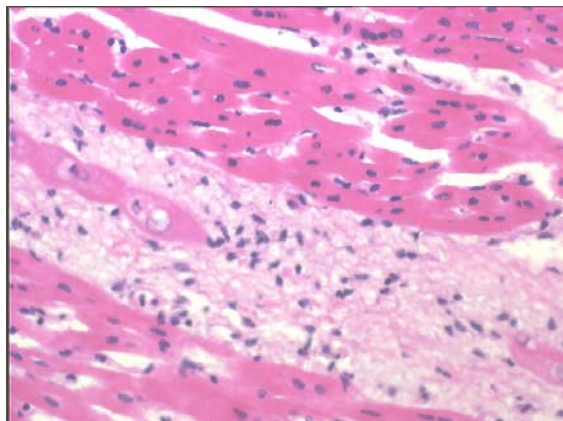
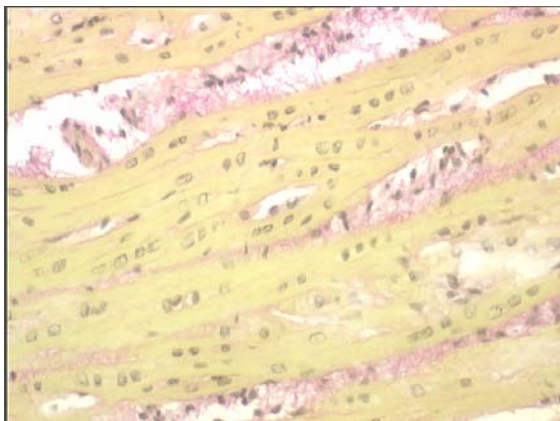
### Morphologische Analyse

Die Abbildungen 20 a bis e zeigen repräsentative Ausschnitte der histologischen Präparate der 5 Versuchstiere (jeweils 200fache Vergrößerung; links HE, rechts van Gieson-Färbung).



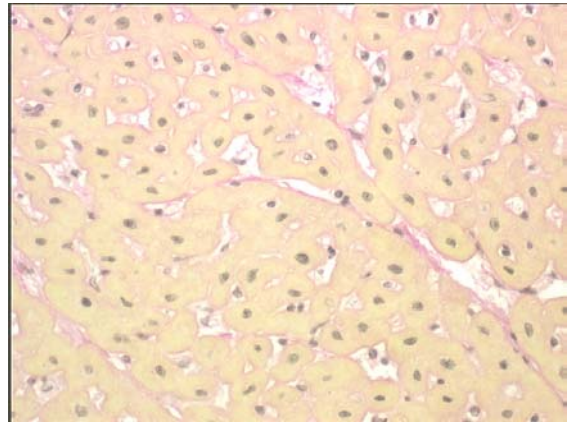
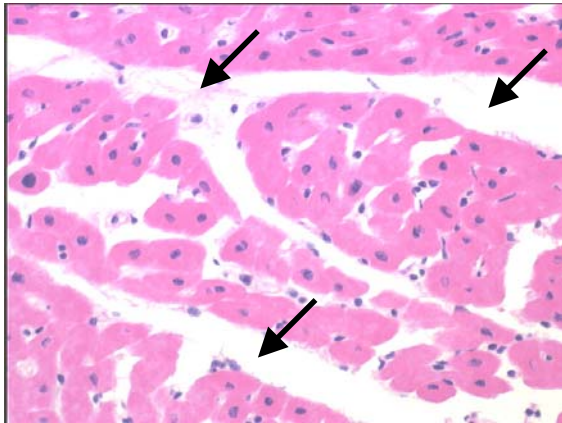
**Abbildung 20a (1).** Myokardprobe aus dem ischämischen Bezirk des Versuchstiers 1.

**Kurzbefund:** Nicht hypertrophiertes Myokard mit interstitieller Fibrose und Narben. Keine sicheren Ischämiezeichen.



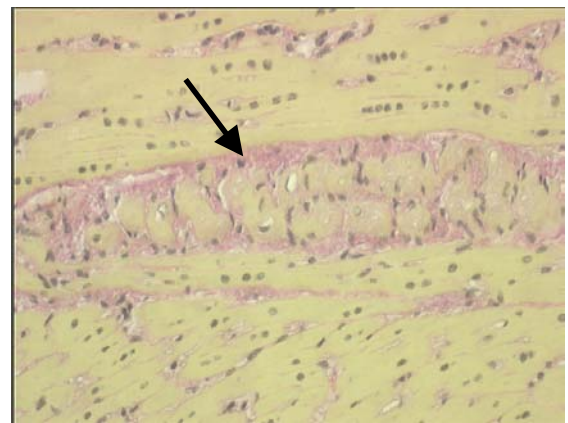
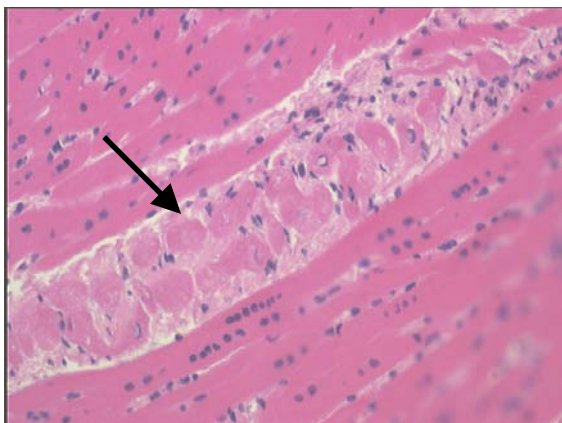
**Abbildung 20a (2).** Myokardprobe aus dem nicht ischämischen Bezirk des Versuchstiers 1.

**Kurzbefund:** Kein wesentlicher pathologischer Befund.



**Abbildung 20b (1).** Myokardprobe aus dem ischämischen Bezirk des Versuchstiers 2.

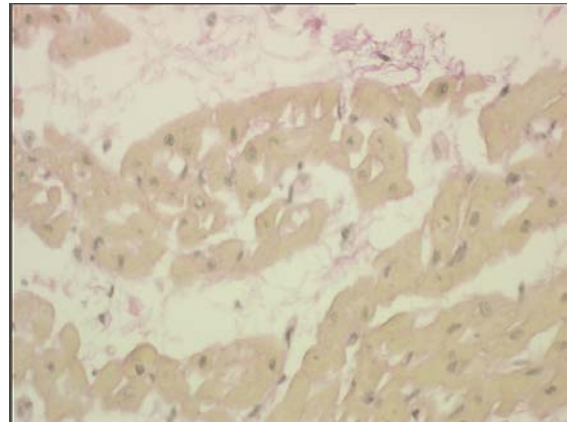
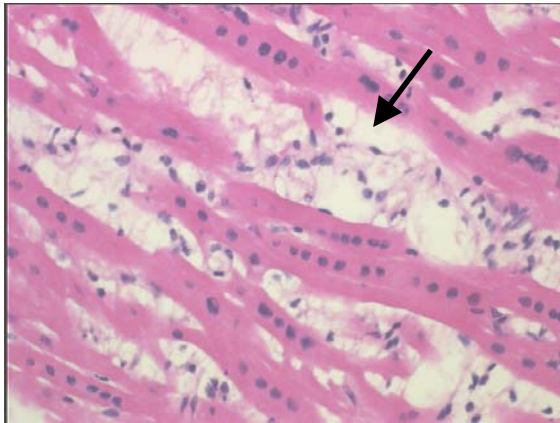
**Kurzbefund:** Interstitielles Ödem als mögliches frühes Zeichen von Ischämie (siehe Pfeilmarkierung).



**Abbildung 20b (2).** Myokardprobe aus dem nicht ischämischen Bezirk des Versuchstiers 2.

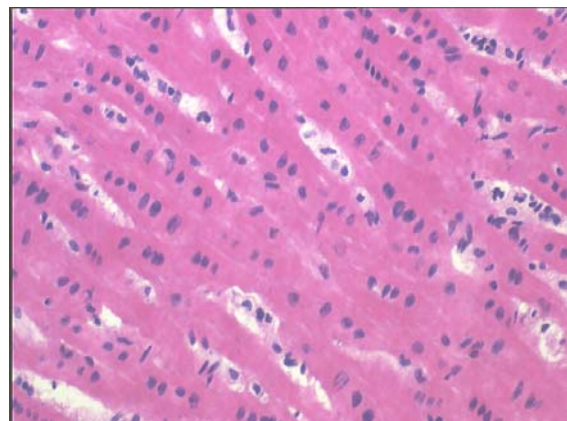
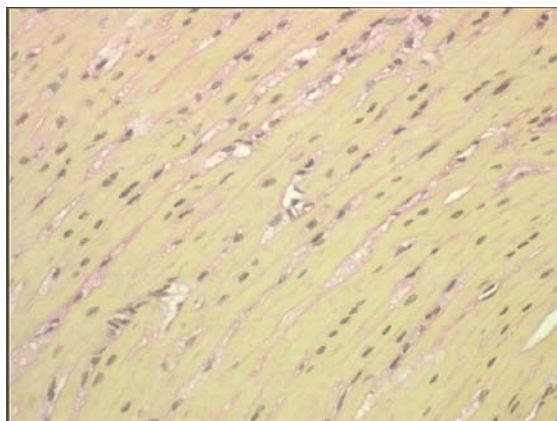
**Kurzbefund:** Überwiegend Normalbefund mit einzelner fokaler Ischämiezone (siehe Pfeilmarkierung).





**Abbildung 20c (1).** Myokardprobe aus dem ischämischen Bezirk des Versuchstiers 3.

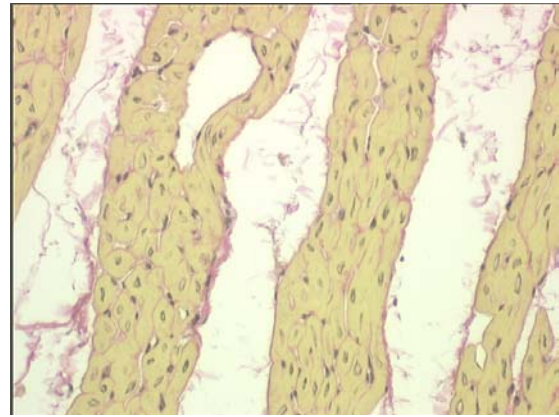
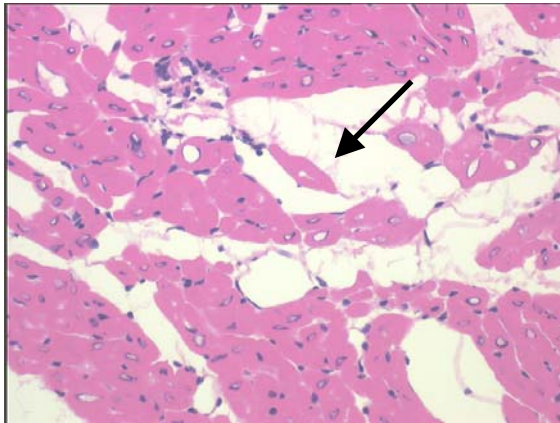
**Kurzbefund:** Interstitielles Ödem als mögliches frühes Zeichen von Ischämie (siehe Pfeilmarkierung).



**Abbildung 20c (2).** Myokardprobe aus dem nicht ischämischen Bereich des Versuchstiers 3

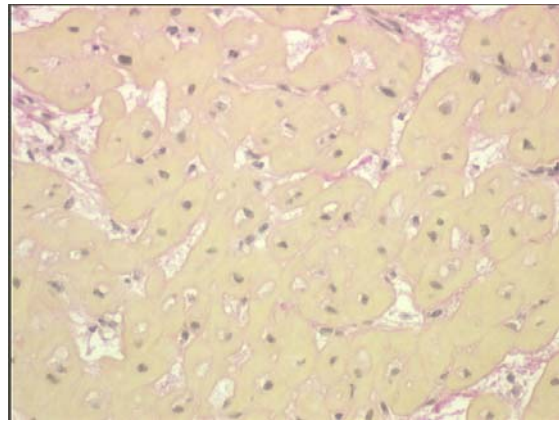
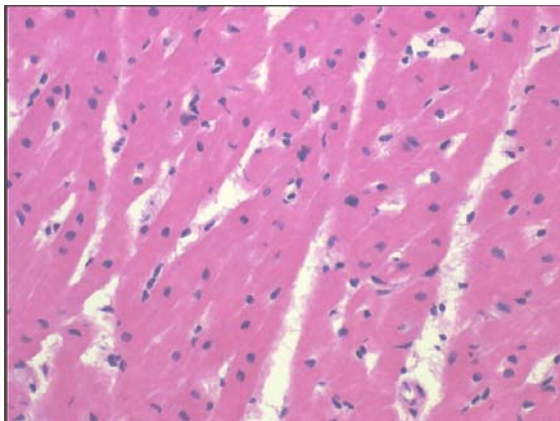
**Kurzbefund:** Kein wesentlicher pathologischer Befund.





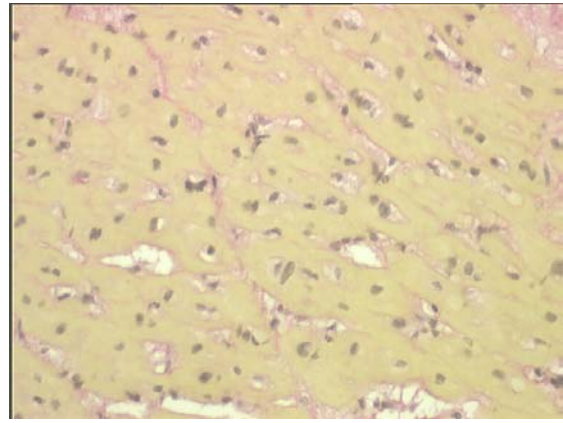
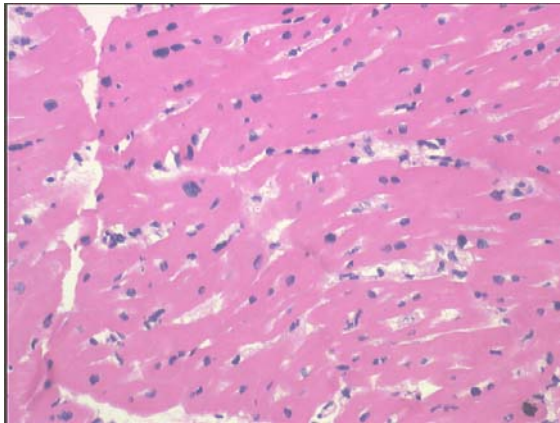
**Abbildung 20d (1).** Myokardprobe aus dem ischämischen Bezirk des Versuchstiers 4.

**Kurzbefund:** Interstitielles Ödem als mögliches frühes Zeichen von Ischämie (siehe Pfeilmarkierung).



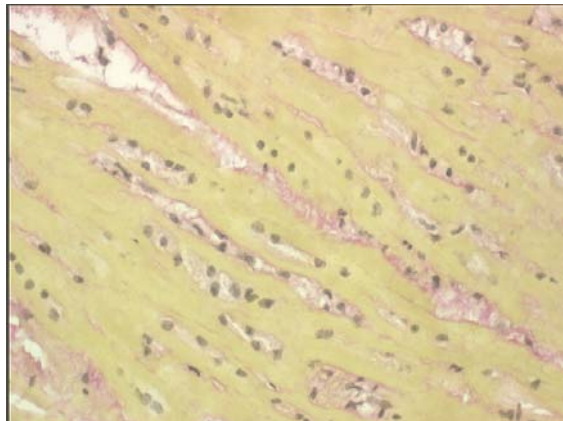
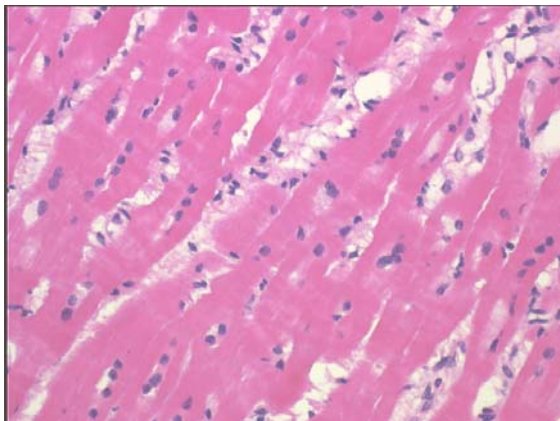
**Abbildung 20d (2).** Myokardprobe aus dem nicht ischämischen Bezirk des Versuchstiers 4.

**Kurzbefund:** Kein Ödem, kein sicher pathologischer Befund.



**Abbildung 20e (1).** Myokardprobe aus dem ischämischen Bezirk des Versuchstiers 5.

**Kurzbefund:** Myozytolyse, aus dem Verband herausgelöste Herzmuskelzellen, zum Teil nur noch in Trümmern vorliegend, Hyperzellularität zwischen den Herzmuskelzellen: Zeichen frischer Ischämie.



**Abbildung 20e (2).** Myokardprobe aus dem nicht ischämischen Bezirk des Versuchstiers 5.

**Kurzbefund:** Deutliche Zeichen von Zelluntergängen, jedoch weniger ausgeprägt als in Abbildung 20e.

### Gewebekonzentration von Troponin T

Die Tabellen 23a und b zeigen die zytosolische (siehe Tabelle 23a) und myofibrilläre, strukturell gebundene (siehe Tabelle 23b) Konzentration von Troponin T als Ergebnis des Tissue Homogenization Assays in Relation zum Gesamtprotein der Gewebeproben. Zur besseren Übersicht wurde das Ergebnis der morphologischen Analyse in Kurzform ergänzt. Hierbei steht "0" für fehlende und "1" für vorhandene Ischämie.

**Tabelle 23a.** Zytosolische Troponin T-Konzentrationen der 10 Gewebeproben

Probe <sup>a</sup>	Protein [µg/mL]	Gesamt- Protein [µg]	TnT [µg/L]	Gesamt- Troponin [ng]	TnT [ng]/ Protein [µg]	HISTO
1, N	28,5	381	52,3	701	1,84	0
1, I	25,2	320	47,7	606	1,89	0
2, N	23,5	298	57,8	734	2,46	0
2, I	26,3	339	60,6	781	2,3	1
3, N	26	338	47,3	615	1,82	0
3, I	22,5	284	18,5	233	0,82	1
4, N	23,6	316	62,9	843	2,67	0
4, I	20,9	280	44,4	595	2,13	1
5, N	26,8	348	55,9	727	2,09	1
5, I	22,8	282	62	769	2,73	1

TnT, Troponin T; <sup>a</sup> Nummer des Versuchstiers (siehe oben) und Angabe zur Art der Gewebeprobe: I, ischämisch; N, nicht ischämisch; HISTO, histologische Einschätzung der Ischämie: 0, keine sichere Ischämie; 1, Zeichen der Ischämie.

**Tabelle 23b.** Myofibrilläre Troponin T-Konzentration der 10 Gewebeproben

Probe <sup>a</sup>	Protein [µg/mL]	Gesamt- Protein [µg]	Troponin [µg/L]	T Gesamt- Troponin [ng]	TnT Protein [µg]	[ng]/ HISTO
1, N	34,3	411	413	4956	12	0
1, I	31,9	383	426	5112	13,3	0
2, N	43,8	526	540	6480	12,3	0
2, I	52,2	626	477	5724	9,14	1
3, N	31,8	382	376	4512	11,8	0
3, I	27,5	330	391	4692	14,2	1
4, N	28,8	346	314	3768	10,9	0
4, I	22,9	275	377	4524	16,5	1
5, N	49,3	592	709	8508	14,4	1
5, I	51,1	613	414	4968	8,1	1

TnT, Troponin T; <sup>a</sup> Nummer des Versuchstiers (siehe oben) und Angabe zur Art der Gewebeprobe: I, ischämisch; N, nicht ischämisch; HISTO, histologische Einschätzung der Ischämie: 0, keine sichere Ischämie; 1, Zeichen der Ischämie.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die zytosolische Troponin T-Konzentration in den ischämischen Proben niedriger war als in den korrespondierenden nicht ischämischen Proben. Strukturell gebundenes Troponin T war nicht eindeutig unterschiedlich zwischen den korrespondierenden Proben.

### mRNA-Expression von Troponin I

Die mRNA-Expression von Troponin I in den untersuchten Gewebeproben ist in Tabelle 24 zusammengefaßt.

**Tabelle 24a.** mRNA-Expression von Troponin I in den 10 Gewebeproben

Probe <sup>a</sup>	CTx	18sRNA, CTr	$\Delta$ ct	$\Delta \Delta$ ct	mRNA- Expression	mRNA - I/N	HISTO
1, N	23,1	13,678	9,422	0	1	1,8868765	0
2, N	20,648	12,836	7,812	1,61	3,052518418	39,1244889	0
3, N	28,964	20,23	8,734	0,688	1,611048582	23,1670108	0
4, N	23,558	18,67	4,888	4,534	23,16701076	0,23132611	0
5, N	22,478	18,55	3,928	5,494	45,06701526	0,10209612	1
1, I	23,138	14,632	8,506	0,916	1,886876502	---	0
2, I	22,972	20,45	2,522	6,9	119,4282229	---	1
3, I	25,662	21,462	4,2	5,222	37,32317983	---	1
4, I	21,9375	14,9375	7	2,422	5,35913441	---	1
5, I	26,2975	19,0775	7,22	2,202	4,601167573	---	1

<sup>a</sup> Nummer des Versuchstiers (siehe oben) und Angabe zur Art der Gewebeprobe: I, ischämisch, N, nicht ischämisch; CTx, threshold cycle des Zielgens (Mittelwerte aus 4-5 Durchläufen); 18sRNA, CTr, threshold cycle des Kontrollgens (Mittelwerte aus 4-5 Durchläufen);  $\Delta$  ct, Differenz zwischen CTx und CTr;  $\Delta \Delta$  ct, Differenz zwischen  $\Delta$  ct und dem  $\Delta$  ct der Probe 1, N; I/N, mRNA-Expression der ischämischen Probe bezogen auf die jeweilige nicht ischämische Probe; HISTO, histologische Einschätzung der Ischämie: 0, keine sichere Ischämie; 1, Zeichen der Ischämie.

Bei den Versuchstieren 1 bis 3 zeigt sich eine deutlich erhöhte mRNA-Expression des Troponin I-Gens. Bei den Tieren 4 und 5 ist die mRNA-Expression vermindert.

**Tabelle 24b.** Zusammenfassung der Ergebnisse der Tierversuche

<b>Tier<sup>a</sup></b>	<b>pTnT</b>	<b>PTnI</b>	<b>mRNA- TnI</b>	<b>HISTO</b>	<b>ZTnT</b>	<b>mTnT</b>
	<b>[µg/L]</b>	<b>[µg/L]</b>			<b>[ng/µg]</b>	<b>[ng/µg]</b>
1, N	< MB	0,033	1 <sup>b</sup>	0	1,84	12
1, I	< MB	0,033	1,887	0	1,89	13,3
2, N	0,014	0,238	3,053	0	2,46	12,3
2, I	0,014	0,238	119,428	1	2,3	9,14
3, N	0,567	20,80	1,611	0	1,82	11,8
3, I	0,567	20,80	37,323	1	0,82	14,2
4, N	0,019	0,721	23,167	0	2,67	10,9
4, I	0,019	0,721	5,359	1	2,13	16,5
5, N	0,024	3,230	45,067	1	2,09	14,4
5, I	0,024	3,230	4,601	1	2,73	8,1

<sup>a</sup> Nummer des Versuchstiers (siehe oben) und Angabe zur Art der Gewebeprobe: I, ischämisch, N, nicht ischämisch; pTnT, maximales Plasma-Troponin T; pTnI, maximales Plasma-Troponin I; mRNA-TnI, relative mRNA-Expression von Troponin I; HISTO, histologische Einschätzung der Ischämie: 0, keine sichere Ischämie; 1, Zeichen der Ischämie.; zTnT, zytosolischer Troponin T-Gehalt; mTnT, myofibrillärer Troponin T-Gehalt; MB, Meßbereich; <sup>b</sup> Bezugspunkt für die relative mRNA-Expression (siehe Tabelle 24a).

## **4. Diskussion**

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der klinischen Bedeutung kardialer Marker bei der koronaren Herzerkrankung und dem Vorkommen sowie der Relevanz von Troponin-Erhöhungen bei Gesunden unter körperlicher Leistung bzw. Patienten mit Niereninsuffizienz. Die Pathophysiologie der geringen Troponin-Anstiege wurde ergänzend im Tierexperiment evaluiert.

### **4.1 Diskussion der Methoden**

#### **Patientenselektion**

Die klinischen Studien waren monozentrisch und prospektiv. Patienten wurden nach den entsprechenden Einschlusskriterien konsekutiv in die Studien aufgenommen. Es ist allerdings zu bedenken, daß ein Universitätsklinikum per se eher kompliziertere und schwerer kranke Patienten behandelt als andere Kliniken. Die Charakteristik der Patienten zeigt entsprechend einen hohen Anteil kardialer Risikofaktoren, und die kardialen Ereignisse in den Verlaufsuntersuchungen treten häufiger auf als in manchen diagnostischen Substudien multizentrischer Therapiestudien<sup>30; 32</sup>. Dieser Umstand schränkt einerseits die Übertragbarkeit der Ergebnisse etwas ein, andererseits bietet sich der Vorteil, alle Patienten mit akutem Koronarsyndrom untersucht zu haben und nicht nur solche mit eher günstigerer Prognose wie in den Substudien der primär therapeutisch orientierten Multicenterstudien.

#### **Zeitlicher Bezugspunkt für die diagnostische Sensitivität und Spezifität**

Die klinischen Studien der vorliegenden Arbeit verwenden als zeitlichen Bezugspunkt zur Berechnung von Sensitivität und Spezifität den Zeitpunkt der ersten Blutentnahme. Dies entspricht auch den Empfehlungen der IFCC<sup>93-95</sup> und des NACB<sup>37</sup>. Der Hintergrund für diese Entscheidung ist die offensichtliche Unsicherheit der zeitlichen Einordnung des Symptombeginns insbesondere bei klinisch instabilen Patienten. Kontrovers haben Zimmerman et al. in der „Diagnostic marker cooperative study“<sup>25</sup> den Symptom- bzw. Schmerzbeginn als Bezugspunkt gewählt. Beim Vergleich der Ergebnisse dieser Studien ist der unterschiedliche Bezugszeitpunkt zu

berücksichtigen. Es ist zu betonen, daß die Verwendung des objektiven Zeitbezuges der ersten Blutentnahme bei unseren diagnostischen Studien keinesfalls bedeutet, daß die Abschätzung der Symptombeginns überflüssig wäre. Insbesondere für therapeutische Entscheidungen spielt der vermutete Symptombeginn eine entscheidene Rolle. Dies war aber nicht Gegenstand unserer Untersuchungen.

### **Experimenteller Ansatz**

Die Tierexperimente dienten der Überprüfung der "continuous release"-Hypothese, die besagt, daß kardiale Marker bei einer Ischämie kontinuierlich freigesetzt werden, so daß ein fließender Übergang von reversibler zu irreversibler Myokardschädigung stattfindet. Zu diesem Zweck wurde eine passagere Ischämie erzeugt, die gerade eben ausreichen sollte, einen nachweisbaren Anstieg kardialer Troponine im Plasma zu bewirken. Es ist kritisch anzumerken, daß nur bei 4 der 5 Tiere das geplante Protokoll vollständig ausgeführt werden konnte. Allerdings wurden bei allen Tieren verwertbare Resultate erzielt, wie unten im Detail diskutiert wird.

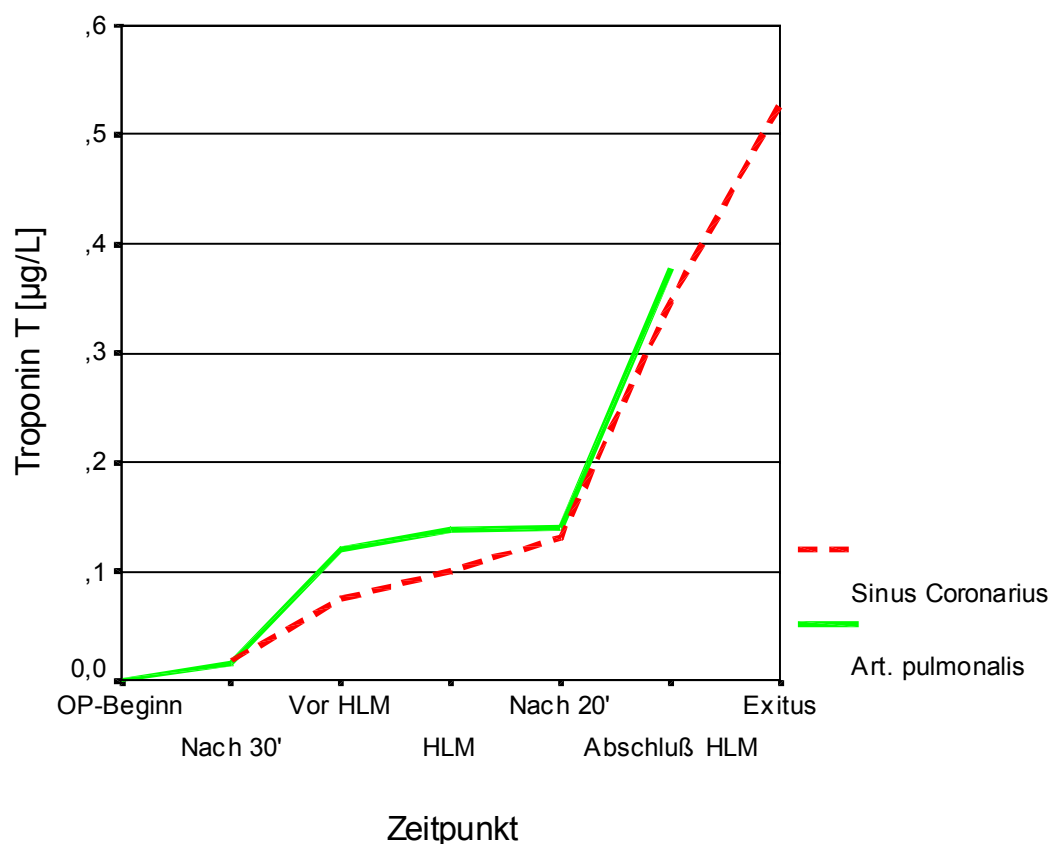
Die lichtmikroskopische Analyse der Myokardproben erlaubt prinzipiell nur eine grobe Einordnung des Myokardschadens. Demzufolge kann nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden, daß trotz der kurzen Ischämiezeit ein irreversibler Myokardschaden entstanden ist. In der Literatur sind zu dieser Problematik ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse zu finden: Heyndrickx et al. sahen nach 15 Minuten Ischämiezeit bei Affen keine myokardiale Nekrose trotz Freisetzung kardialer Marker<sup>76</sup>. Jennings und Reimer konnten nach 40minütigem Verschuß des Ramus circumflexus beim Hund bereits 28% Nekrose des ischämischen Myokards feststellen<sup>96</sup>. Über die Unterschiede der Ischämietoleranz von Affen, Hunden und Schweinen existieren keine systematischen Untersuchungen.

Die definitive Feststellung myozellulärer Integrität ist grundsätzlich methodisch bisher nicht zufriedenstellend gelöst<sup>13</sup>.

Ein weiterer Aspekt ist der Ort der Blutentnahme. In unserer Studie wurde aus praktischen Gründen Blut aus der Arteria femoralis verwendet. Möglicherweise hätten Blutentnahmen aus dem Koronarsinus eine höhere Sensitivität und damit eine kürzere Ischämiezeit erlaubt. In einem Vorversuch im Rahmen einer behördlich genehmigten Operationsübung wurde bei einem Schwein gemischt-venöses Blut aus



der Arteria pulmonalis und Koronarsinusblut entnommen und Troponin T nach den im Abschnitt Methodik beschriebenen Verfahren bestimmt. Im Rahmen der Operationsübung (Herz-Lungen-Maschine, HLM) kam es durch eine passagere globale Ischämie zum Myokardschaden. Die Abbildung 21 zeigt, daß die Werte aus dem Koronarsinus nicht wesentlich von den gemischt-venösen Werten abweichen. Aus diesem Grund und da die Katheterisierung des Koronarsinus beim Läuferschwein technisch sehr schwierig ist, wurde das Blut aus der arteriellen Schleuse entnommen.



**Abbildung 21.** Troponin T im Koronarsinus und in der Arteria pulmonalis während einer Operationsübung am Läuferschwein

HLM, Herz-Lungen-Maschine

## **Verwendung der Labormethoden zur Messung kardialer Marker im Tierversuch am Schwein**

Kardiales Troponin T und I sowie Myoglobin wurden mit kommerziell erhältlichen Testverfahren gemessen, die für die Anwendung im Schweinmodell nicht validiert worden sind. Allerdings gibt es zahlreiche Hinweise für die Gültigkeit der Resultate, wenn auch die Linearität der Verfahren nicht mit letzter Sicherheit angenommen werden kann. Eine kürzlich erschienene Arbeit von Fredericks et al.<sup>97</sup> untersucht insbesondere die analytische Spezifität der kardialen Troponin T- und I-Messungen bei verschiedenen Labortieren einschließlich Schweinen. Es zeigt sich, daß kardiales Troponin T und I bei Schweinen mit kommerziellen Standardassays (Troponin T, Roche Diagnostics und Troponin I, Beckmann Instruments) hochspezifisch nachweisbar ist und vergleichbar dem Menschen keine wesentliche Kreuzreaktivität auftritt. Immunoblots von Herzmuskelproben zeigen ein vergleichbares, wenn auch nicht identisches Molekulargewicht von kardialem Troponin T und I beim Menschen und beim Schwein<sup>97</sup>. Eine Gegenüberstellung der Aminosäuresequenzen von humanem und Schweine-Troponin T und I ist bisher nicht publiziert. Ebenso wenig stand uns die genaue Spezifizierung des Troponin-Epitops für die Antikörper der im Tierversuch verwendeten Troponin-Tests zu Verfügung. Für den mRNA-Nachweis wurde ein bisher nicht publiziertes Schweine-Troponin I-Fragment verwendet, das zum Design des Primers ausreichte. Eine entsprechende Sequenz für Troponin T stand uns nicht zur Verfügung.

Einige experimentelle Arbeiten verwendeten humane Troponin-Testverfahren und erzielten plausible Ergebnisse für Troponin T<sup>98; 99</sup> und I<sup>75; 100</sup>.

Die Interpretation der Ergebnisse muß vor dem Hintergrund dieser Limitationen gesehen werden.

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 Die klinische Anwendung der biochemischen Marker bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom**

Es wurden drei klinische Studien an Patienten mit akutem Koronarsyndrom durchgeführt, die im Kapitel Methodik unter der Stichworten (1) **Myoglobin-Studie**,

(2) **Troponin I-Studie** und (3) **Troponin T-Studie** behandelt wurden. Die Ergebnisse dieser Studien werden im folgenden nach thematischen Gesichtspunkten gemeinsam diskutiert.

#### **4.2.1.1 Frühdiagnostik des akuten Myokardinfarkts**

Die Myoglobin-Studie untersuchte verschiedene kardiale Marker im Hinblick auf die frühe Diagnosesicherung eines akuten Myokardinfarkts. Hierbei wurde der AMI nach der klassischen WHO-Definition<sup>5</sup> diagnostiziert, wie oben im Detail beschrieben wurde. Die Studie hatte insbesondere das Ziel, die aktuellen Richtlinien zur biochemischen Diagnosestellung des akuten Koronarsyndroms der National Academy of Clinical Biochemistry (NACB)<sup>37</sup> und der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC)<sup>94</sup> zu validieren. Die Kernaussagen dieser Richtlinien sind im Kapitel Methodik zusammengefaßt. Im folgenden werden die Ergebnisse zu den verschiedenen Markern diskutiert.

##### **a) Myoglobin allein**

Wie erwartet, hatte Myoglobin die höchste Sensitivität hinsichtlich eines AMI innerhalb der ersten 4 Stunden nach Aufnahme. Umgekehrt konnte mit hoher Sicherheit ein AMI ausgeschlossen werden, wenn Myoglobin innerhalb von 4 Stunden negativ blieb. Die Tabelle 10 zeigt die Charakteristika der Patienten mit Myoglobinwerten unter 90µg/L in den ersten 4 Stunden. In dieser Gruppe lag die Infarkthäufigkeit mit 13% versus 60% deutlich unter der Prävalenz im Gesamtkollektiv. Kein Patient erlitt einen Q-wave-Infarkt, und kein Patient verstarb im Follow up.

Damit wurden die Richtlinien der NACB und IFCC validiert, die Myoglobin als den besten verfügbaren Marker zum frühen "rule in" und "rule out" nennen.

##### **b) CK-MB-Masse allein**

Die CK-MB-Masse wurde in einigen Studien im Vergleich zu den kardialen Troponinen<sup>70; 101-103</sup> oder Myoglobin untersucht<sup>102; 104</sup>.

Unsere Daten bestätigen Ergebnisse früherer Untersuchungen, daß die CK-MB-Masse eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität hat, aber in den ersten Stunden nach Symptombeginn dem Myoglobin nicht überlegen ist.

In späteren Phasen des AMI, das heißt 4 Stunden nach Aufnahme oder ungefähr 6 Stunden nach Symptombeginn in der vorliegenden Studie, haben die konventionellen Marker bereits einen guten diagnostischen Nutzen im Vergleich zur CK-MB-Masse (siehe Abbildungen 6 und 7), jedoch keinen prognostischen Wert, wie unten (unter 4.2.1.2) näher diskutiert wird. Der Vorteil der CK-MB-Masse wäre möglicherweise klarer geworden, wenn die Prävalenz des AMI niedriger läge. Die sinkende Spezifität der CK-MB-Masse im Verlauf der 24 Stunden nach Aufnahme erklärt sich durch Erhöhungen dieses Markers bei Patienten mit progredientem minor myocardial damage, die durch unsere AMI-Definition nicht erfaßt werden und damit als falsch positiv gelten. Die CK-MB-Masse ist bei einigen, aber nicht allen Patienten mit MMD erhöht. Definiert ist der MMD durch erhöhte Troponin-Werte bei Patienten ohne AMI nach WHO-Kriterien. Patienten mit MMD haben bekanntermaßen eine deutlich schlechtere Prognose als Patienten ohne Troponin-Anstieg<sup>29; 30; 32; 83; 105</sup>.

Unter Berücksichtigung all dieser Überlegungen war die CK-MB-Masse in der Sensitivität in der frühen Phase des AMI dem Myoglobin sowie in der MMD-Diagnosestellung dem Troponin unterlegen. Für die späte AMI-Diagnosefindung ist das kardiale Troponin wegen des größeren diagnostischen Fensters ohnehin der bevorzugte Marker. Somit wird die Einschätzung von NACB und IFCC unterstützt, daß die CK-MB-Masse keinen Vorteil gegenüber Myoglobin oder kardialem Troponin bietet.

### **c) CK-MB-/CK-Aktivität allein**

Die Verwendung des Quotienten aus CK-MB- und CK-Aktivität ist in Deutschland nach wie vor sehr verbreitet, obwohl in den neuen Richtlinien der European Society of Cardiology (ESC) und des American Congress of Cardiology (ACC) nicht in erster Linie empfohlen<sup>12</sup>. Ein wichtiger Aspekt bei dieser Methode sind die immer noch deutlich niedrigeren Analysekosten. Ein weiterer wichtiger Gesichtspunkt ist die Vergleichbarkeit der Meßergebnisse mit publizierten Befunden vergangener Jahre.

Unsere Ergebnisse belegen, daß bei konventioneller AMI-Definition die CK-MB-/CK-Aktivität ein guter diagnostischer Standard ist, der allerdings zwei wesentliche

Schwächen aufweist: Zum einen ist er für die Frühdiagnostik innerhalb der ersten 4 Stunden nach Aufnahme deutlich weniger geeignet (siehe Abbildungen 6 und 7) als Myoglobin oder die CK-MB-Masse. Weiterhin sind eine prognostische Einschätzung und damit eine Risikostratifizierung nicht möglich (siehe Tabelle 11b). Der aktuelle Stellenwert der CK-MB/CK in der klinischen Infarktdiagnostik wird unten (siehe Abschnitt 4.2.5) erneut aufgegriffen.

#### **d) Troponin I allein**

Troponin I zeigt eine sehr hohe Sensitivität jedoch eine deutlich schlechtere kumulative Spezifität bezüglich des AMI im Vergleich zu den anderen Markern (siehe Abbildung 6 und 7). Dies ist auf die Patienten mit MMD zurückzuführen, die per definitionem in unserer Studie als falsch positiv gelten. Wie in Kapitel 3 (Ergebnisse) dargestellt, liegt der optimale Cutoff mit 3,1µg/dL deutlich über dem empfohlenen Wert von 1,5µg/L. Dies unterstreicht unsere frühere Einschätzung, daß jedes Troponin I-Testsystem separat in Hinblick auf seine diagnostische und prognostische Wertigkeit untersucht werden muß<sup>35</sup>. Ergebnisse anderer Meßsysteme sind nicht übertragbar. Zu dieser Einschätzung kommen auch Jaffé et al.<sup>13</sup> in einem aktuellen Editorial zum Einsatz der kardialen Troponine in der Routinediagnostik des akuten Koronarsyndroms.

#### **e) Kombination Troponin I mit Myoglobin**

Es wird vermutet, daß die parallele Bestimmung von Myoglobin und Troponin I gegenüber einem Marker allein Vorteile im Sinne einer Erhöhung des diagnostischen Nutzens bietet<sup>106</sup>. Der von Gerhardt et al.<sup>77</sup> vorgeschlagene Algorithmus beschreibt die Interpretation von Myoglobin und kardialen Troponin (ALGO; siehe Abbildung 4) und wurde in unserer Studie erstmals prospektiv überprüft. Die diagnostische Wertigkeit wurde anhand zweier unterschiedlicher Vorschriften berechnet (siehe auch Abschnitt 2, Methodik):

- 1) Erhöhung der diagnostischen Spezifität auf Kosten der Sensitivität (siehe ALGO in Abbildung 6 und 7). Ausschlußkriterien: Myoglobin negativ bei Aufnahme; Myoglobin oder Troponin I negativ zu den späteren Zeitpunkten.

- 2) Erhöhung der diagnostischen Sensitivität auf Kosten der Spezifität (siehe TnI und/oder MYO in den Abbildungen 6 und 7). Ausschlusskriterium: Myoglobin und Troponin I negativ.

Die Ergebnisse belegen, daß die Kombination (ALGO) die Spezifität der AMI-Diagnose deutlich auf Kosten der Sensitivität im Vergleich zu den beiden Markern allein erhöht. Umgekehrt erhöht sich die Sensitivität bei Verwendung der zweiten Interpretationsvorschrift. Dies bestätigt frühere Studien, die die Verwendung des höchsten Troponin T-Wertes innerhalb eines diagnostischen Zeitraumes bzw. einen Wert bei Aufnahme zur AMI-Diagnostik vorschlugen<sup>103; 107</sup>. Es ist allerdings zu bedenken, daß erhöhte kardiale Troponin-Konzentrationen im Plasma wahrscheinlich in kontinuierlicher Weise eine myokardiale Schädigung anzeigen<sup>108</sup>. Demzufolge kann der Nutzen eines kardialen Troponins nicht ausreichend in den Kategorien Sensitivität und Spezifität im Hinblick auf die Diagnose AMI nach WHO-Kriterien erfaßt werden. Konsequenterweise resultiert der aktuelle Vorschlag des Konsensus-Komitees der ESC und des ACC, das kardiale Troponin als neuen Goldstandard bei der Diagnose des AMI einzuführen, gleichzeitig damit aber auch den Begriff AMI grundlegend zu verändern. Dieser besondere Aspekt wird in Abschnitt 4.2.5 abschließend aufgegriffen.

Insgesamt unterstützen unsere Ergebnisse die Zwei-Marker-Strategie der NACB/IFCC-Richtlinien.

#### **4.2.1.2 Risikostratifizierung beim akuten Koronarsyndrom**

##### **a) Nicht selektionierte Patienten mit akutem Koronarsyndrom: Myoglobin- und Troponin I-Studie**

Wir führten zwei Studien an 200 (Myoglobin-Studie) bzw. 162 (Troponin I-Studie) nicht selektierten Patienten mit akutem Koronarsyndrom durch. Die prognostische Aussagekraft der Marker wurde in den Tabellen 11, 12, 14 und 15 sowie der Abbildung 11 dargestellt.

Die Tabelle 11a gibt einen Überblick über die Ereignisrate in der Myoglobin-Studie im 6-Wochen-Follow up. Das häufigste kardiale Ereignis war eine weitere Episode instabiler Angina pectoris, möglicherweise als Ausdruck einer Restenose im

interventionell behandelten Gefäß oder einer inkompletten Revaskularisierung mit residualer Ischämie. Die hohe Inzidenz erneuerter kardialer Ischämie im 6-Wochen-Follow up unserer Studie bestätigt, daß eine konsequente Belastungsdiagnostik nach einem AMI erforderlich ist<sup>18</sup>, um sowohl die negativen Folgen unerkannter residualer Ischämie, als auch die unerwünschten Wirkungen einer aggressiven invasiven Therapie zu vermeiden<sup>109</sup>.

Aus der logistischen Regressionsanalyse ergab sich ein unabhängiger prognostischer Wert für kardiales Troponin I und die CK-MB-Masse, nicht aber für Myoglobin und die CK-MB-/CK-Aktivität (siehe Tabelle 11b). Der prognostische Nutzen war lediglich unter Verwendung aller über 24 Stunden erhobenen Meßwerte nachweisbar, obwohl andere den Nutzen einer singulären Troponin-Bestimmung bei Aufnahme belegen konnten<sup>31</sup>. Auch in dieser Studie von Newby et al. werden aber durch eine weitere Bestimmung nach 16 Stunden signifikant mehr Patienten mit hohem Risiko identifiziert. Es sind weitere Studien erforderlich, um zu klären, ob frühe Troponin-Messungen allein ausreichend sind, um eine Risikostratifizierung in einem Kollektiv mit hoher Infarktprävalenz vorzunehmen.

Die logistische Regressionsanalyse in unserer Studie war für Alter, Geschlecht, Art der Therapie und Diagnose AMI kontrolliert. Die Bestimmung von kardialen Troponin verbessert also nicht nur, wie oben ausgeführt, die Diagnosefindung, sondern ermöglicht eine Risikostratifizierung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom. Es konnte gezeigt werden, daß dies für die gesamte Studienpopulation und nicht nur für eine retrospektiv selektionierte Gruppe von Patienten mit instabiler Angina pectoris gilt.

Ein unerwartetes Ergebnis unserer Studie war, daß die Odds ratio in Hinblick auf den primären Endpunkt für den niedrigen, vom Hersteller empfohlenen Troponin I-Cutoff von 1,5µg/L geringer war (OR 2,00; siehe Tabelle 11b), als für den Cutoff von 3,1µg/L (OR 3,31; siehe Tabelle 11b). Auch in der Troponin I-Studie lagen die optimalen Cutoffs deutlich über den gewöhnlich empfohlenen Grenzwerten (siehe Abbildung 11 und Tabelle 15).

NACB und IFCC hatten empfohlen, zwei Cutoffs einzuführen, um eine höhere Zahl von Patienten mit myokardialer Schädigung zu identifizieren, welche noch nicht die WHO-Kriterien des akuten Myokardinfarkts erfüllten<sup>37; 108</sup>. Das Konsensus-Komitee der ESC und des ACC hatte darauf aufbauend die 99%-Perzentile gesunder

Probanden als Troponin-Grenzwert zur Definition des AMI empfohlen<sup>12</sup>. Die entsprechenden Daten sind leider bisher nicht verfügbar. In unserer Studie wurde die höhere Odds ratio mit dem für den WHO-AMI gültigen Cutoff erzielt. Zahlreiche Patienten mit geringeren Troponin-Erhöhungen hatten somit keine Ereignisse im Follow up. Die Verteilung der Ereignisse nach Troponin-Status und Diagnose sind in Tabelle 12 zusammengefaßt. Dies bestätigt Ergebnisse von Lindahl et al., die eine positive Korrelation zwischen der Höhe des Troponin-Wertes und der Häufigkeit ungünstiger kardialer Ereignisse fanden<sup>110</sup>.

### **b) Patienten mit atypischer oder milder Symptomatik: Troponin T-Studie**

Troponin T ist ein gut untersuchter biochemischer Marker für die Diagnosestellung eines AMI<sup>27; 36; 102; 103; 107; 111-114</sup>. Bereits ebenfalls gut belegt ist der prognostische Nutzen von Troponin T bei der schweren instabilen Angina pectoris. Patienten mit erhöhtem Troponin T haben eine höhere kardiale Morbidität und Letalität im Vergleich zu den Troponin T-negativen Patienten<sup>29; 30; 83; 105; 115</sup>.

Unsere Studie beschäftigte sich mit der speziellen Fragestellung, ob Troponin T-Messungen ergänzende prognostische Aussagen bei Patienten mit atypischer oder milder instabiler Angina pectoris-Symptomatik (Braunwald Klasse I) ermöglichen, bei denen ein akuter Myokardinfarkt nach WHO-Kriterien initial ausgeschlossen worden war. Es konnte gezeigt werden, daß auch in dieser Patientengruppe erhöhte Troponin T-Werte ein gesteigertes kardiovaskuläres Risiko im Krankenhaus sowie nach drei und 6 Monaten anzeigen (siehe Abbildung 12). Eine andere Studie mit einer deutlich höheren Infarkt-Prävalenz (37% verglichen mit 13% in unserer Studie) konnte übereinstimmend belegen, daß Troponin T-Erhöhungen die Langzeitprognose vorhersagen<sup>116</sup>. Es muß allerdings betont werden, daß die Symptomatik der Patienten<sup>117</sup>, insbesondere nach Braunwald klassifiziert<sup>118</sup>, sowie auch nicht-diagnostische ST-T-Strecken Veränderungen im EKG<sup>116</sup> eine signifikante prognostische Aussagekraft neben Troponin T haben. Aufgrund der Tatsache, daß unsere Patientengruppe eine vergleichsweise milde Symptomatik aufwies, ergibt die zusätzliche Bestimmung von Troponin T einen substantiellen Zugewinn an Information über die Prognose dieser Patienten, die nicht aus der klinischen Präsentation und dem EKG abzuleiten ist.



Die schlechtere Langzeit-Prognose (siehe Abbildung 12) war im wesentlichen durch die initial höhere Ereignisrate der Troponin T-positiven Patienten bedingt. Offensichtlich charakterisiert das erhöhte Troponin T ein akutes instabiles Geschehen. Anschließend hatten beide Patientengruppen eine ähnlich hohe Morbidität und bestätigen frühere Einschätzungen der eingeschränkten Prognose von Patienten, die mit dem Verdacht eines AMI im Krankenhaus aufgenommen werden<sup>112</sup>.

Es ist kritisch anzumerken, daß in unserer Studie nur 11 Patienten Troponin T-positiv waren. Einer dieser Patienten verstarb an einem AMI noch im Krankenhaus. Ein weiterer Patient verzog nach Krankenhausentlassung unbekannt und konnte nicht erneut kontaktiert werden. Ein weiterer Patient verweigerte die Befragung nach 6 Monaten, war allerdings sicher am Leben. Somit war das Follow up bei 9 von 10 lebend entlassenen Troponin T-positiven Patienten nach drei Monaten und bei 8 von 10 nach 6 Monaten vollständig. Ein entscheidender Selektionsfehler ist somit wenig wahrscheinlich, jedoch nicht auszuschließen.

Troponin T ist nicht der einzige geeignete Marker zur Risikostratifizierung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom. Es war insbesondere interessant, neuere Testsysteme für Troponin I, aber auch die CK-MB-Masse in Hinblick auf ihren prognostischen Nutzen zu untersuchen, da auch für diese Marker ein prognostischer Nutzen gezeigt werden konnte<sup>105</sup>. Es erscheint allerdings wichtig, die Marker in einer Gruppe von nicht selektionierten Patienten mit akutem Koronarsyndrom zu untersuchen, da insbesondere die instabile Angina pectoris und der kleine, nicht transmurale Myokardinfarkt ohne ST-Streckenhebungen bei Aufnahme eines Patienten nicht sicher zu unterscheiden sind. Die Interpretation von Troponin-Werten unter Berücksichtigung der zur Verfügung stehenden Therapieoptionen muß aber sofort erfolgen.

#### **4.2.1.3 Einfluß der Troponinfreisetzung als Komplex**

Die biochemischen Unterschiede von Troponin T und I sowie die unterschiedlichen Testsysteme zur Troponin I-Bestimmung führten zu der Fragestellung, ob die Ergebnisse verschiedener Methoden zu den gleichen diagnostischen und prognostischen klinischen Schlußfolgerungen führen würden<sup>119</sup>. Der biochemische

Hintergrund der unterschiedlichen Troponin I-Testsysteme war kürzlich von Wu et al. untersucht worden<sup>39</sup>. Es konnte gezeigt werden, daß kardiale Troponine als T-I-C-Komplex freigesetzt werden und anschließend im Blut zu T und I-C abgebaut werden. Die verschiedenen Testsysteme haben eine unterschiedliche Affinität zu diesen Komplexen<sup>39</sup>.

In unserer Studie wurden zwei analytisch unterschiedliche Troponin I-Testsysteme miteinander verglichen: Das Stratus®II-System (TnI-S) mit einer höheren Affinität zum T-I-C-Komplex und das Opus®plus-System (TnI-O) mit einer höheren Affinität zum I-C-Komplex. Beide Systeme sind seit einigen Jahren kommerziell erhältlich und wurden klinisch für die Anwendung zur Risikostratifizierung bei instabiler Angina pectoris evaluiert<sup>32-34</sup>. Das Stratus®II-System war die erste kommerziell verfügbare Troponin I-Methode und wurde unter anderem in der Studie von Antman et al. verwendet<sup>32</sup>. Das Opus®plus-System wurde in den Studien von Wu et al.<sup>34</sup> und Lüscher et al.<sup>33</sup> sowie häufig auch bei Untersuchungen unter körperlicher Leistung verwendet (siehe unten Tabelle 25) und wurde unter anderem von uns klinisch evaluiert<sup>84</sup>.

Die diagnostische Wertigkeit von TnI-S zeigt einen kleinen Vorteil gegenüber TnI-O im Hinblick auf die frühe Sensitivität (siehe Tabelle 13) und die Fläche unter der ROC-Kurve (siehe Abbildung 9). Dies bestätigt unsere Hypothese, daß die höhere Affinität zu dem früh freigesetzten T-I-C Komplex die diagnostischen Eigenschaften eines Systems verbessert. Andererseits war TnI-O in der Spezifität geringfügig überlegen (siehe Tabelle 13) und wies höhere positiv-prädiktive Werte auf. Sämtliche Unterschiede zwischen den Systemen waren - mit Ausnahme der Flächen unter den ROC-Kurven nach 4 Stunden - statistisch nicht signifikant und unterhalb klinisch relevanter Werte.

Interessanterweise korrelierten die beiden verschiedenen Troponin I-Testsysteme sehr gut bei Aufnahme. Nach 24 Stunden sank der Korrelationskoeffizient jedoch auf 0,7 (siehe Abbildung 8). Dies spiegelt die unterschiedliche Kinetik der Troponin-Komplexe wider. Weiterhin könnte die Fragmentierung von Troponin I mit unterschiedlicher Beeinflussung der Zielepitope der Antikörper beider Testsysteme eine Rolle spielen<sup>41</sup>. Jedenfalls dürfte es sehr schwierig sein, die Troponin I-Messung zu standardisieren und ineinander umrechenbare Ergebnisse zu erzielen, solange unterschiedliche Antikörper verwendet werden.

In unserer Studie wurde nicht nur die diagnostische Leistungsfähigkeit sondern auch die Wertigkeit der Troponin I-Testsysteme für die Risikostratifizierung mit einer Nachbeobachtung über 6 Monate untersucht. Die Tabelle 15 zeigt, daß beide Systeme eindeutig Patienten mit hohem und niedrigem Risiko für kardiale Ereignisse identifizieren können. Wie bereits von Newby et al. für Troponin T gezeigt werden konnte<sup>31</sup>, so ergeben auch in unserer Studie serielle Messungen von Troponin I mehr Informationen als eine einzelne Bestimmung bei Aufnahme. Die Tabelle 15 veranschaulicht, daß mit beiden Methoden nur serielle Bestimmungen eine Risikostratifizierung erlauben. Unter Verwendung der weitläufig akzeptierten Cutoffs scheint TnI-O einen Vorteil bei der Risikostratifizierung zu bieten (siehe Abbildung 11). Dies könnte Folge der höheren Konzentration der binären (I-C-) Komplexe in der Zeit 8 bis 24 Stunden nach Aufnahme und der damit optimierten Sensitivität von TnI-O in diesem Zeitintervall sein.

#### **4.2.2 Kardiale Troponine unter besonderen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen**

##### **4.2.2.1 Kardiale Troponine unter körperlicher Leistung gesunder Probanden**

In der Untersuchung an 15 gesunden Probanden hatten 7 von 15 (entspricht 47%) einen Troponin T-Wert über 0,1µg/dL, dem akzeptierten Grenzwert für eine myokardiale Schädigung. Der maximale Wert lag bei 0,18µg/L. Troponin I war bei diesen Probanden ebenfalls bis maximal 4,04µg/L erhöht und lag bei 5 von 15 Probanden (entspricht 33%) über dem Cutoff von 1,6µg/L. Die Ergebnisse der 7 Probanden mit Troponin T-Erhöhungen sind in Tabelle 18 zusammengefaßt.

Dieses Ergebnis überrascht, da bisher davon ausgegangen wird, daß kardiales Troponin im Plasma grundsätzlich eine myokardiale Schädigung anzeigt. Mögliche Ausnahmen sind zum einen Patienten mit Niereninsuffizienz, bei denen allerdings die Ursache möglicher falsch positiver Troponin-Messungen bislang nicht abschließend geklärt ist und ein myokardialer Ursprung auch hier denkbar wäre<sup>15</sup>. Weiterhin exprimieren Patienten mit Myopathien möglicherweise kardiales Troponin im Skelettmuskel, wie Messner et al. kürzlich anhand von mRNA-Messungen von

kardialem Troponin T und I zeigen konnten<sup>120</sup>. Allerdings fehlt der Nachweis paralleler Erhöhungen kardialen Troponins im Plasma dieser Patienten<sup>16</sup>.

Myokardiale Veränderungen während extremer sportlicher Belastungen sind durchaus beschrieben worden<sup>54; 121</sup>. Im Tierversuch an Ratten führte extreme körperliche Leistung zu histologischen Zeichen der myokardialen Schädigung (unter anderem entzündliches Infiltrat) und parallel Troponin T-Anstiegen im Serum<sup>121</sup>. Rifai et al. fanden eine im Mittel um 24% niedrigere Ejektionsfraktion bei Sportlern nach dem Hawaii "Ironman" Triathlonwettkampf<sup>54</sup>.

Einige Arbeiten untersuchten kardiales Troponin unter körperlicher Leistung und kamen zu widersprüchlichen Ergebnissen: Eine Reihe von Studien zu kardialem Troponin T schließt myokardiale Schäden bei extremer körperlicher Leistung aus<sup>44; 45; 55; 122; 123</sup>. Andere finden sowohl Troponin I- (überwiegend Opus<sup>®</sup>plus-System, wie auch in der eigenen Studie) oder Troponin T-Erhöhen und schließen, daß eine Erhöhung myokardialer Proteine mit bislang unklarer Bedeutung auftreten kann<sup>47; 49; 50; 53; 54</sup>. Siegel et al. finden eine isolierte Troponin I-Erhöhung bei einem Läufer, jedoch im Follow up nach einem Jahr keinerlei negative Folgen<sup>55</sup>. Bei genauer Analyse der Troponin-negativen Arbeiten ergibt sich jedoch, daß einige durchaus meßbare Troponin T-Werte ergaben, die unterhalb des akzeptierten Cutoffs lagen. Die Tabelle 25 gibt einen Überblick über bisherige Studienergebnisse mit Messungen von kardialem Troponin bei Gesunden unter extremer körperlicher Leistung.

**Tabelle 25.** Literaturübersicht: Extreme körperliche Leistung und kardiales Troponin

Quelle	Probanden	N	Ergebnisse	Kommentar
Artner-Dworzak et al. <sup>44</sup>	"Heavy physical exercise"	6	Troponin T $\leq 0,2\mu\text{g/L}$	Assay der 1. Generation
Bonetti et al. <sup>45</sup>	Radfahrer (Giro d'Italia)	25	Troponin T meßbar bei 5 Fahrern ( $< 0,1\mu\text{g/L}$ )	Schlußfolgerung: keine Myokardschädigung
Collinson et al. <sup>122</sup>	Marinesoldaten bei schwerem Training	219	Troponin T meßbar bei 2 Soldaten ( $< 0,2\mu\text{g/L}$ )	Assay der 1. Generation
Cummins et al. <sup>124</sup>	Marathonläufer	11	Troponin I (RIA) bei einem Läufer $23\mu\text{g/L}$ (Referenzbereich $< 10\mu\text{g/L}$ )	---
Davila-Roman et al. <sup>46</sup>	Ultramarathonläufer in großer Höhe (2350-4300m): 163km	14	Troponin I (Stratus®II) bei einem Läufer $5\mu\text{g/L}$	keine LV-Funktionsstörung; 36% RV-Funktionsstörung; Assay d. 1. Generation
Denvir et al. <sup>47</sup>	Triathleten ("Scottish Coast to Coast", 300km)	31	Troponin I (Access®) bei 6 Teilnehmern $>0,1\mu\text{g/L}$	---
Koller et al. <sup>48</sup>	Bergauf/-ablaufen; Ultramarathon; alpines Radfahren	53	Troponin I (Pasteur) und Troponin T unter der Nachweisgrenze	---
Laslett et al. <sup>49</sup>	100-Meilen-Läufer	5	Troponin T bei allen Teilnehmern erhöht (max. $8,55\mu\text{g/L}$ )	3 Teilnehmer mit bekannter KHK
Lucia et al. <sup>50</sup>	Marathonläufer (Madrid Marathon)	22	Troponin I (Pasteur) und Troponin T bei einem Läufer $> 0,1\mu\text{g/L}$	keine myokardiale Schädigung, unabhängig vom Trainingszustand
Mair et al. <sup>53</sup>	Marathonläufer und Radmarathonfahrer (230km)	28	Troponin T bei einem Läufer 2 Tage nach dem Marathon $1\mu\text{g/L}$	Assay der 1. Generation
Müller-Bardorff et al. <sup>123</sup>	Marathonläufer	43	Troponin T bei allen Teilnehmern negativ	---
Rifai et al. <sup>54</sup>	Triathleten (Hawaii "Ironman")	23	2 Teilnehmer mit TnT (max. $0,33\mu\text{g/L}$ ) und I (Opus <sup>®</sup> ; max. $4,44\mu\text{g/L}$ ); 4 Teilnehmer mit Troponin T $< 0,1\mu\text{g/L}$	Echokardiographie: LVEF um 24% reduziert
Siegel et al. <sup>55</sup>	Marathonläufer (Boston Marathon)	45	Troponin T $< 0,1\mu\text{g/L}$ ; Troponin I (Opus <sup>®</sup> ) bei einem Läufer erhöht	Follow up nach 1 Jahr: keine Auffälligkeiten

Legende Tabelle 25: Troponin T, Roche Diagnostics; Troponin I Stratus® II und Opus®, Dade Behring; Troponin I Access®, Beckmann (von Sanofi Pasteur entwickelt); Troponin I Pasteur, „ERIA“, Sanofi Diagnostics Pasteur. RIA, radio immuno assay; LV, linksventrikulär; RV, rechtsventrikulär; KHK, koronare Herzerkrankung; LVEF, linksventrikuläre Ejektionsfraktion.

Es läßt sich zusammenfassend sagen, daß in einigen Studien mehr oder weniger zahlreiche positive Befunde kardialen Troponins festgestellt wurden. Das gilt teilweise auch für Studien, die in ihrer eigenen Schlußfolgerung eine relevante myokardiale Schädigung verneinen<sup>53; 55</sup>.

In den Arbeiten von Davila-Roman et al.<sup>46</sup> und Rifai et al.<sup>54</sup> wurden parallel echokardiographische Untersuchungen durchgeführt. Davila-Roman et al. konnten bei dem einzigen Teilnehmer mit Troponin-Erhöhung eine reversible, ausschließlich rechtsventrikuläre Funktionsstörung feststellen<sup>46</sup>. Rifai et al. beobachteten eine reversibel verminderte linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei den Probanden mit erhöhtem Troponin. Da die echokardiographisch festgestellten kardialen Funktionseinschränkungen passagerer Natur sind, ist zu vermuten, daß kardiales Troponin hier ohne Zelluntergang freigesetzt wird. Dieser Vermutung wurde im Tierexperiment weiter nachgegangen, das unten (in Abschnitt 4.2.4) im Detail diskutiert wird. Dementgegen stehen ein Fallbericht<sup>125</sup> und eine pathophysiologische Hypothese<sup>126</sup> von Rowe, der mikrovaskuläre Spasmen als mögliche Ursache myokardialer Schädigung bei extremer körperlicher Leistung ansieht, obwohl Sportler bezogen auf die epikardialen Arterien eine höhere Dilatationskapazität haben<sup>127</sup>. Allerdings wurde in diesem Fall kein kardiales Troponin gemessen.

Die klinische Bedeutung dieser Troponin-Erhöhrungen ist bisher unklar. Die einzige Arbeit mit einem Follow up ergab keine prognostische Bedeutung der Erhöhung kardialer Marker<sup>55</sup> über den Zeitraum eines Jahres bei einem Probanden. Weitere Untersuchungen an größeren Kollektiven mit einem ausreichenden Anteil Troponin-positiver Befunde sind erforderlich.

Eine experimentelle Arbeit an Ratten zeigt, daß starke körperliche Leistung zu erhöhten Serumwerten von kardialem Troponin T führt, dieser Effekt jedoch bei vorherigem Training der Ratten nachläßt<sup>121</sup>. Demzufolge wäre zu vermuten, daß Troponin-Erhöhrungen eine Überbelastung anzeigen. Lucia et al. konnten bei Marathonläufern jedoch keinen Zusammenhang zwischen Trainingszustand und

Troponin-Erhöhung feststellen. Allerdings wurde auch nur bei einem Probanden ein erhöhter Troponin-Wert gefunden (siehe Tabelle 25)<sup>50</sup>.

Zusammenfassend belegen unsere Ergebnisse in Übereinstimmung mit einigen neueren Arbeiten die Möglichkeit einer passageren myokardialen Schädigung durch extreme körperliche Leistung. Die Einschätzung insbesondere früherer Arbeiten, daß körperliche Leistung Gesunder nicht zu myokardialer Schädigung führen könne, muß als widerlegt angesehen werden. Über die prognostische Bedeutung dieser Troponin-Erhöhungen zu spekulieren, scheint verfrüht. Es muß allerdings als fraglich angesehen werden, ob Sportler, die bei extremer Wettkampfleistung eine Troponin-Erhöhung aufweisen, eine schlechtere Prognose haben als andere Athleten. Daher ist die Beurteilung von Troponin-Erhöhungen eventuell doch nicht uniform möglich, wie von Jaffe et al.<sup>13</sup> postuliert, die den prognostischen Wert unabhängig von der pathophysiologischen Ursache sehen. Möglicherweise sind funktionelle myokardiale Veränderungen mit Troponin-Verlust ohne Zelluntergang die Ursache dieses Phänomens. Es muß allerdings in klinischen Studien mit Verlaufsbeobachtung geklärt werden, ob die asymptomatische Troponin-Erhöhung vermeintlich gesunder Sportler über Jahre hinweg einen Zusammenhang mit myokardialen Erkrankungen wie beispielsweise der Myokarditis oder der Kardiomyopathie aufweist.

#### **4.2.2.2 Kardiale Troponine bei Patienten mit Niereninsuffizienz**

Nach wie vor besteht eine Kontroverse, wie Troponin-Erhöhungen bei kardial asymptomatischen Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz einzuordnen sind<sup>16</sup>. Unsere Ergebnisse deuten daraufhin, daß kein enger Zusammenhang zwischen Erhöhungen kardialer Troponine und dem Outcome der Patienten besteht. Dies gilt für Patienten mit und ohne Hämodialysetherapie. Allerdings sind in letzter Zeit einige Arbeiten zu Patienten mit chronischer Hämodialysetherapie publiziert worden, die übereinstimmend einen prognostischen Wert von Troponin T - im Sinne einer erhöhten kardialen Morbidität - bei diesen Patienten belegen<sup>72; 74; 128; 129</sup>. Als Hauptkritikpunkt an diesen Studien ist anzuführen, daß die untersuchten Patienten nicht ausreichend kardial charakterisiert sind. Die Prävalenz der koronaren Herzkrankheit ist bei Patienten unter chronischer Hämodialysetherapie höher als in vergleichbaren Kollektiven ohne Niereninsuffizienz<sup>60</sup>. Es ist daher zu erwarten, daß auch eine höhere Anzahl von Patienten mit atypischer Symptomatik und stummer

Myokardischämie, die auch Troponin-positiv sein können, zu finden ist. Desweiteren gibt es keine neueren Studien zu Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ohne Hämodialysetherapie.

Wir untersuchten Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz mit und ohne Hämodialysetherapie, die gut kardial charakterisiert waren, und fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Erhöhungen von kardialem Troponin T oder I und der Letalität, einem späteren Myokardinfarkt oder der Wiederaufnahme in ein Krankenhaus im Follow up von im Median 9 Monaten<sup>15</sup>. Die Schlußfolgerung ist, daß unspezifische Erhöhungen von kardialem Troponin I und T unabhängig von der kardialen Prognose bei diesen Patienten vorkommen können.

Eine Erklärung für solche unspezifischen Erhöhungen könnten molekulare Veränderungen der Muskulatur in der Urämie sein. Erst kürzlich wurde die Expression von kardialem Troponin I und T im myopathischen Muskel beschrieben<sup>120</sup>. Allerdings wurden keine entsprechenden Erhöhungen im Serum gefunden, so daß die klinische Bedeutung dieser Befunde unklar bleibt<sup>16</sup>. Frühere Studien, die die Expression von kardialem Troponin T in regenerierendem Skelettmuskel, z. B. bei Polymyositis oder Morbus Duchenne<sup>130</sup>, oder im Skelettmuskel von Dialysepatienten<sup>68</sup> nachwiesen, verwendeten nicht mehr gebräuchliche Antikörper bzw. konnten keine korrespondierenden Plasmaerhöhungen von Troponin T bei diesen Patienten nachweisen. Umgekehrt hatten andere Patienten kardiale Troponin T-Erhöhungen ohne Nachweis dessen Expression im Skelettmuskel. Neuere Studien haben bestätigt, daß die Skelettmuskelexpression von kardialem Troponin T bei Dialysepatienten keine falsch positiven Befunde im Plasma zur Folge hat<sup>131-133</sup>.

Es stellt sich die Frage, ob Troponin-Erhöhungen im Plasma kardial asymptomatischer Patienten mit Niereninsuffizienz primär ein analytisches Problem sein könnten. Wie von anderen biochemischen Analysen, z. B. bei Parathormon, bekannt, könnte speziell bei Hämodialysepatienten der Troponin-Metabolismus verändert sein. Degradationsprodukte, die insbesondere beim Troponin I bereits beim Nierengesunden für die Analytik eine Rolle spielen<sup>40; 41</sup>, könnten falsch positive Ergebnisse erzeugen. Bislang stehen allerdings Western Blot (WB)-Analysen von Plasmen solcher Patienten aus. Dies hat im Wesentlichen wohl den Grund, daß die



unspezifischen Erhöhungen meist im Konzentrationsbereich unter 1µg/L liegen, die im WB schwierig nachweisbar sind.

Obwohl es nach unseren Ergebnissen fraglich ist, ob geringe kardiale Troponin-Erhöhungen zur Risikostratifizierung dieser Patienten geeignet sind, so kann die Bestimmung von kardialem Troponin dennoch von Nutzen sein, insbesondere wenn der klinische Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom besteht. Martin et al. fanden eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 100% für kardiales Troponin I zur Diagnose eines AMI bei Patienten mit Nierensinsuffizienz<sup>134</sup>. Leider ist die Aussagekraft dieser Studie durch die inkomplette kardiale Diagnostik bei einem großen Teil der 56 Patienten begrenzt.

Die Frage nach dem prognostischen Nutzen im allgemeinen und einer verbindlichen Strategie zum Einsatz der kardialen Troponine im besonderen bei Patienten mit Niereninsuffizienz wird nur im Rahmen einer großen prospektiven Studie mit detaillierter kardialer Diagnostik der Patienten zu klären sein.

#### **4.2.3 Tierexperimentelle Evaluierung passagerer Ischämie: Erhöhung kardialer Troponine im Plasma bei reversibler Myokardschädigung?**

Die Tierexperimente dienten der Evaluierung der von A. Wu formulierten "continuous release"-Hypothese, nach der kardiales Troponin möglicherweise bei schwerer Ischämie durch eine reversibel geschädigte Zellmembran ohne Zelluntergang freigesetzt werden könnte.

Die 30 Minuten andauernde Ischämie führte, wie geplant, zu geringen Troponin I- und T-Erhöhungen im Sinne eines minor myocardial damage (siehe Abbildung 19).

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Myokardproben ergab mögliche frühe Zeichen der Ischämie im Versorgungsgebiet der okkludierten LAD bei den Tieren 2 bis 4 und korrespondierend Normalbefunde im Bereich der Kontrollproben. Das Tier 1 ließ sich nach der Ischämiephase hämodynamisch nicht stabilisieren und mußte vorzeitig getötet werden. Hier fanden sich weder in der Vorderwand- noch in der Hinterwandprobe sichere Ischämiezeichen. Das Tier 5 schließlich zeigte in beiden Proben lichtmikroskopische Hinweise früher Ischämie. Dies könnte zum einen Ausdruck einer globalen Ischämie während der postischämischen Schockphase sein. Zum anderen wäre eine akzidentelle Okklusion des Ramus circumflexus denkbar.

Die Ergebnisse der quantitativen Gewebsuntersuchungen müssen vor dem Hintergrund dieser Histologie bewertet werden.

Die quantitative Analyse von zytosolischem (siehe Tabelle 23a) und myofibrillärem (siehe Tabelle 23b) Troponin T zeigt, daß bei den Tieren 2 bis 4 im ischämischen Myokard weniger zytosolisches Troponin T vorhanden ist, während das myofibrilläre Troponin T nicht signifikant verändert ist. Bei den Tieren 1 und 5 unterscheiden sich die korrespondierenden zytosolischen Werte nicht wesentlich voneinander, da beide Proben ischämisch (Tier 5) bzw. nicht ischämisch (Tier 1) sind. Dieses Ergebnis läßt sich insgesamt als Verlust des zytosolischen Troponin T bei Ischämie ohne Veränderung des strukturellen Troponins interpretieren. Damit ergibt sich ein Indiz für die Hypothese der Freisetzung kardialen Troponins aus strukturell intaktem Myokard.

Ein weiterer Aspekt dieser Hypothese ist die Aktivität der Genexpression spezifischer mRNA im ischämischen Myokard. Die RT-PCR der mRNA von Troponin I ergab widersprüchliche Ergebnisse. Im Vergleich der Proben zeigt sich tendenziell eine Hochregulation der Genexpression im ischämischen Myokard (siehe Tabelle 24a). Dies ist als Beleg dafür aufzufassen, daß ischämisches Myokard, das eine meßbare Troponin-Erhöhung im Plasma bewirkt, möglicherweise zur reparativen Troponin I-Expression angeregt wird. Damit bestehen intakte Stoffwechselprozesse, die in nekrotischen Arealen nicht möglich wären. Darüber hinaus weist dieser Befund daraufhin, daß die durch die Ischämie bedingte Synthesesteigerung von Troponin I eventuell zu einem Überschuß in der Zelle führt und dann, ohne daß zwangsläufig eine Nekrose zugrunde liegt, Troponin I aus der Zelle auf bislang unbekanntem Wege freigesetzt wird. Für die CK-MB sind erhöhte Konzentrationen im erkrankten Myokard bereits beschrieben worden.<sup>135</sup>

Die Hypothese des "continuous release" wurde von Wu et al.<sup>17</sup> auf der Basis tierexperimenteller Befunde von Feng et al.<sup>75</sup> formuliert. Neuere experimentelle Befunde an transgenen Mäusen belegen die pathophysiologische Bedeutung der intrazellulären Proteolyse von Troponin I. Vor diesem Hintergrund ist es besonders für das kardiale Troponin I denkbar, daß bei Patienten mit MMD erhöhte Troponin I-Fragmente gemessen werden, die aufgrund ihres geringeren Molekulargewichts die Zellmembran möglicherweise leichter passieren können als intakte Makromoleküle. Die Bedeutung der Degradierung von Troponin I für die Interpretation von Testergebnissen aus Serum- oder Plasmaproben ergibt sich aus den Arbeiten von

Katrukha et al.<sup>40</sup> und Labugger et al.<sup>41</sup>: Es kann bei den momentan verfügbaren Troponin I-Testverfahren nicht sicher davon ausgegangen werden, daß ausschließlich intaktes Troponin I gemessen wird. Diese Erklärung geringer Troponin I-Erhöhungen bei passagerer Ischämie ohne myokardiale Nekrose erklärt allerdings nicht die Troponin T-Anstiege, da hier bisher keine Degradationsprodukte beschrieben wurden, die es aber theoretisch geben könnte und im Sinne der obigen Ausführungen geben müßte.

Aktuell wurde der Myokardinfarkt auf der Basis der prognostischen Bedeutung kardialer Troponin-Anstiege bei Patienten ohne Infarkt nach WHO-Kriterien neu definiert<sup>12</sup>. Dabei wird davon ausgegangen, daß eine Troponin-Erhöhung im Plasma bzw. Serum von Patienten mit ischämietypischer Symptomatik *stets* mit einem Myokardzelluntergang einhergeht. In einem Editorial gestehen Jaffé et al.<sup>13</sup> jedoch zu, daß dieses Thema nicht abgeschlossen ist und betonen, daß es für den Kliniker bedeutungslos sei, ob eine festgestellte Troponin-Erhöhung einer reversiblen oder irreversiblen Myokardzellschädigung entspreche, da die prognostische Aussagekraft per se gegeben sei und die Therapie von der Pathophysiologie der Troponin-Erhöhung nicht abhänge.

Dieser Einschätzung muß grundsätzlich widersprochen werden. Zwar sieht es im Moment so aus, als wenn Troponin-Erhöhungen eine uniforme Bedeutung als Marker der ungünstigen Prognose hätten. Jedoch zeigen die oben diskutierten Befunde (siehe Abschnitt 4.2.2), daß es möglicherweise auch prognostisch unbedeutende Troponin-Erhöhungen gibt und damit die klinische Einschätzung des Patienten bzw. weitere Befunde, wie z. B. das EKG, erneut entscheidende Bedeutung erlangen. Zweitens gibt es bisher keine Evidenz auf höchstem Level im Sinne der "evidence based medicine"<sup>136</sup>, daß Troponin-Erhöhungen sinnvolle therapeutische Konsequenzen hätten. Zwar haben retrospektive Analysen ergeben, daß Troponin-positive Patienten mit instabiler Angina pectoris mehr von abciximab<sup>137</sup> oder niedermolekularem Heparin<sup>90</sup> profitieren als Troponin-negative Patienten. Der prospektive Beweis dieser Hypothese steht jedoch aus, und vorläufige Ergebnisse der prospektiven GUSTO IV-Studie scheinen dem zu widersprechen (Präsentation ESC, August 2000, Amsterdam, Niederlande).

Somit könnte es durchaus sein, daß in Zukunft die Unterscheidung zwischen reversibler und nicht reversibler Ischämie hinsichtlich der Therapie eine Rolle spielen

wird. Diese Unterscheidung wird aber möglicherweise andere, eventuell niedermolekulare und bisher noch nicht näher charakterisierte biochemische Marker erfordern. Einen entsprechend kontroversen Standpunkt bezieht auch B. E. Sobel in einem Editorial<sup>14</sup>.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, daß eine kurzdauernde, reversible Ischämie zu einer Freisetzung kardialer Troponine oder ihrer Fragmente, welche hier nicht untersucht wurden und daher nicht unterscheidbar sind, führen kann. Allerdings ist natürlich nicht sicher auszuschließen, daß auch in den von uns untersuchten Proben kleinste fokale Nekrosen entstanden sind, deren volle Ausprägung nach 4 Stunden lichtmikroskopisch noch nicht nachweisbar war. Es ist aber methodisch, selbst unter Einsatz der Elektronenmikroskopie, sehr schwierig, in dieser Frage zu einem eindeutigen Ergebnis zu kommen<sup>13; 138</sup>. Die Tatsache, daß die mRNA-Expression von Troponin I im ischämischen Muskel unserer Studie eher erhöht war, deutet auf funktionierende zelluläre Prozesse und damit die Möglichkeit einer reversiblen Ischämie mit Troponin-Erhöhungen im peripheren Blut hin (siehe Tabelle 24b).

Es ist allerdings kritisch zu erwähnen, daß zukünftige tierexperimentelle Studien zu diesem Thema sicherlich eine höhere Fallzahl, ultrastrukturelle Analysen und eine Kontrollprobengewinnung mittels Biopsie vor Ischämie aus dem späteren Ischämiebezirk einbeziehen sollten. Weiterhin sollten zelluläres Troponin I und seine Degradationsprodukte gemessen werden, wie auch die Troponin T-mRNA-Expression nachzuweisen wäre.

#### **4.2.4 Der Einsatz biochemischer Marker in der diagnostischen und prognostischen Einschätzung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom: Ein Algorithmus zur klinischen Anwendung**

Eine Vielzahl klinischer Studien der letzten Jahre hat dazu geführt, kardiale Troponine standardmäßig in der diagnostischen Evaluierung von Patienten mit akutem Koronarsyndrom einzusetzen<sup>13</sup>, und ein ESC/ACC-Konsensus-Komitee hat - wie oben ausgeführt - bereits eine Neudefinition des AMI unter Berücksichtigung der kardialen Troponine vorgenommen<sup>12</sup>. Nicht zuletzt aufgrund der in dieser Arbeit vorgelegten Daten ist jedoch berechtigte Skepsis angebracht, ob der Wechsel zu einem Troponin-Standard bei der Definition des AMI zum jetzigen Zeitpunkt bereits angebracht ist. Die zwei entscheidenden Kritikpunkte sind:

- (1) die fehlende Standardisierung der Troponin I-Meßmethoden sowie fehlende Daten aus klinischen Studien zu einigen neu eingeführten Produkten<sup>13</sup>,
- (2) das bisher nur lückenhafte Verständnis der Pathophysiologie der Troponin-Erhöhen im Plasma<sup>14</sup>.

Aus den in dieser Arbeit präsentierten Daten wurde daher eine eher konservative Strategie zum Einsatz der biochemischen Marker beim akuten Koronarsyndrom abgeleitet, die allerdings in jedem Fall auch Troponin-Messungen beinhaltet. Der Begriff akuter Myokardinfarkt wird hier weiterhin im Sinne der klassischen WHO-Definition verstanden<sup>5</sup>. Patienten mit Troponin-positiver instabiler Angina pectoris haben demzufolge einen MMD.

Die vorgeschlagene Strategie zum Einsatz der Marker ist in Abbildung 22 zusammengefaßt. Serielle Messungen kardialen Troponins bis zum Auftreten eines positiven Wertes sind sinnvoll, da unsere Daten in Übereinstimmung mit anderen den Vorteil mehrerer Messungen innerhalb von 24 Stunden belegen<sup>31</sup>. Da der Symptombeginn bei zahlreichen Patienten nicht zuverlässig bekannt ist, sollte das Protokoll bei Aufnahme jedes Patienten beginnen.

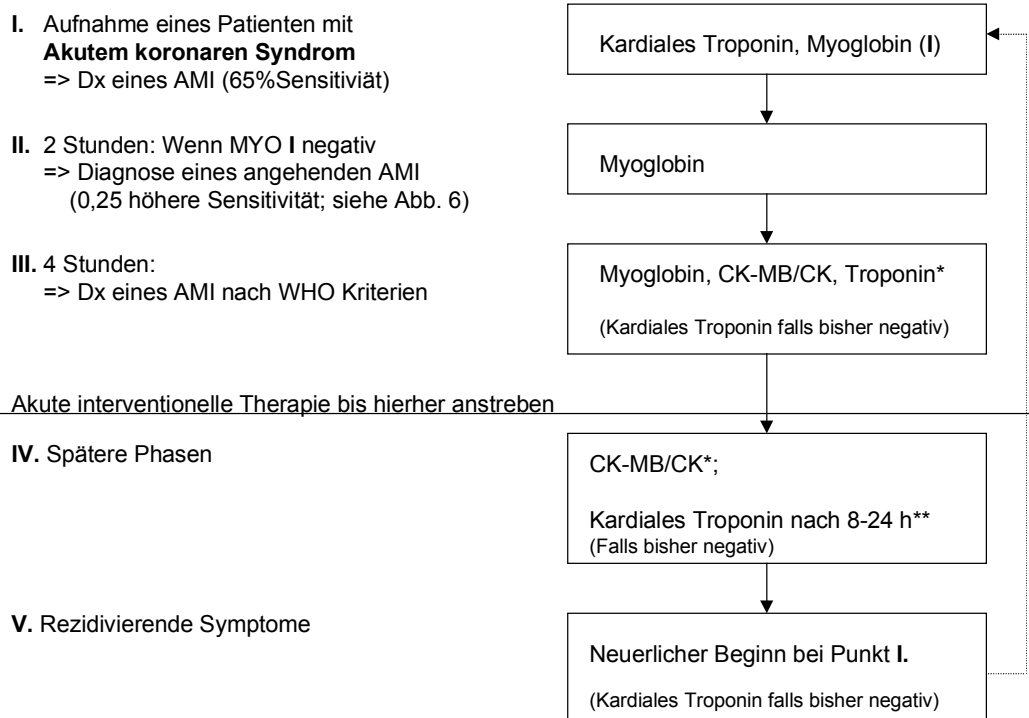
Das Protokoll müßte eventuell angepaßt werden, falls die Prävalenz des AMI in der zu untersuchenden Population als sehr viel niedriger als 60% einzuschätzen wäre. Allerdings wird unser Algorithmus durch neuere multizentrische Untersuchungen mit ähnlichem Zeitschema der Blutabnahmen bestätigt<sup>139</sup>.

Sobald bei einem Patienten nach der Aufnahme erneut Symptome eintreten, muß das Schema von neuem begonnen werden. In Übereinstimmung mit den NACB-Richtlinien sehen wir eine einzige positive Troponin-Bestimmung als diagnostisch für einen Myokardzelluntergang an, so daß weitere Bestimmungen zu diagnostischen Zwecken im Hinblick auf den AMI nicht erforderlich sind<sup>37</sup>. Dies gilt allerdings nur, solange das Troponin durch andere Marker, wie vorgeschlagen, ergänzt wird (siehe Abbildung 22). Andernfalls müßte unter Berücksichtigung der Ausführungen unter 4.2.3 ein AMI-Cutoff für die kardialen Troponine, der bisher nicht existiert, gefordert werden.

In der klinischen Praxis wird häufig ein langsam einsetzender AMI befürchtet, und es erfolgen zusätzliche engmaschige Blutabnahmen zur Bestimmung kardialer Marker. Unsere Daten zeigen, daß nach 4 Stunden bzw. ungefähr 6 Stunden nach

Symptombeginn nur noch wenig Information durch zusätzliche Messungen gewonnen wird (siehe Abbildungen 6 und 7). Die Tabelle 10 zeigt darüber hinaus, daß kein Q-wave-Infarkt übersehen wird, wenn die Myoglobinwerte innerhalb der ersten 4 Stunden unter 90µg/L liegen. Es ist jedoch darauf zu achten, daß in Übereinstimmung mit anderen Studien bei sehr früh eintreffenden Patienten ein Wert nach mehr als 6 Stunden erhoben wird<sup>105</sup>. Weiterhin ist es nach wie vor unklar, ob eine interventionelle Strategie bei Patienten mit non-Q-wave-Myokardinfarkt sinnvoll ist<sup>109; 140-142</sup>. Selbst bei Patienten mit Troponin-positiver instabiler Angina pectoris ist der Nutzen einer Akut-Intervention bisher nicht durch große prospektive randomisierte Studien belegt. Retrospektive Analysen sprechen jedoch dafür, daß diese Gruppe von Patienten besonders von Koronarinterventionen in Verbindung mit GPIIb/IIIa-Antagonisten<sup>137</sup> oder niedermolekularen Heparinen<sup>90; 143</sup> profitiert. Daher ist eine Risikostratifizierung mit kardialen Markern zur Therapiesteuerung notwendig, auch wenn der definitive Beweis der Richtigkeit dieses Vorgehens noch aussteht.

Schließlich ist kritisch anzumerken, daß in unserer Studie die diagnostische Überlegenheit der CK-MB-/CK-Aktivität in den späteren AMI-Phasen dadurch beeinflußt sein könnte, daß wir diese Variable als biochemisches Kriterium für den AMI verwendet haben. Es ist zu vermuten, daß die kardialen Troponine überlegen wären, wenn geeignete Cutoffs zur Unterscheidung zwischen AMI und MMD definiert wären. Idealerweise müßten diese Cutoffs in einer großen Kohortenstudie für jeden Troponin-Assay festgelegt werden. Da diese Daten fehlen, hat die NACB vorgeschlagen, die 97,5%-Quantile gesunder Probanden als Grenze des MMD anzusetzen. Aktuell wurde von dem ESC/ACC-Konsensus-Komitee die 99%-Quantile<sup>12</sup> als AMI-Cutoff nach neuer Definition desselben festgelegt. Folgt man dem neuen ESC/ACC-Konsensus-Dokument, so ist diese Diskussion hinfällig, da jede Troponin-Erhöhung in Verbindung mit ischämietypischer Symptomatik als AMI definiert wird<sup>12</sup>.



Dx, Diagnose; AMI, akuter Myokardinfarkt; MYO, Myoglobin; WHO, World Health Organization; CK-MB, Kreatinkinase-Isoenzym MB.

**Abbildung 22.** Einsatz biochemischer Marker in der klinischen Praxis; modifiziert nach Möckel et al.<sup>78</sup>

## **5. Zusammenfassung und Beantwortung der Fragestellungen**

Es wurden Studien zur biochemischen Evaluierung des akuten Koronarsyndroms unter drei Aspekten unternommen:

(1) Die klinische Anwendung der biochemischen Marker zur Diagnosesicherung und Risikostratifizierung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, (2) die Bedeutung kardialer Troponine unter besonderen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen und (3) die tierexperimentelle Evaluierung passagerer Ischämie mit der Fragestellung, ob eine Erhöhung kardialer Troponine im Plasma bei reversibler Myokardschädigung auftreten kann.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden klinischen und experimentellen Untersuchungen ergaben zu den aufgeführten Fragen die folgenden Ergebnisse:

Ad (1): Die klinische Anwendung der kardialen Marker kann zuverlässig nach aktuellen Richtlinien erfolgen und sollte immer auch die Messung eines kardialen Troponins beinhalten. Troponin-Testsysteme sollten in klinischen Studien hinsichtlich des diagnostischen und prognostischen Nutzens evaluiert worden sein. Die in dieser Arbeit untersuchten Systeme wiesen nachweisbare Unterschiede auf, die jedoch für den klinischen Einsatz nicht bedeutsam sind.

Geringe Troponin T-Erhöhen bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom und eher geringer oder atypischer Symptomatik haben eine eindeutige prognostische Aussagekraft und ergänzen damit signifikant die klinische Einschätzung und das EKG.

Ad (2): Kardiale Troponine können bei herzgesunden Probanden unter extremer körperlicher Leistung gering erhöht sein. Die prognostische Bedeutung dieser Befunde ist unklar.

Kardiales Troponin kann bei kardial asymptomatischen Patienten mit Niereninsuffizienz ohne sichere prognostische Bedeutung erhöht sein.

Ad (3): Tierexperimentell ergeben sich Hinweise darauf, daß es bei reversibler Ischämie im Sinne eines "continuous release" zur Freisetzung von kardialem Troponin bzw. zumindest von Degradationsprodukten desselben kommen kann.



Die zukünftige Entwicklung von Richtlinien zum Einsatz biochemischer Marker wird entscheidend davon abhängen, ob auf den erhobenen Befunden therapeutische Strategien mit nachgewiesenem Nutzen im Sinne einer "evidence based medicine" aufbauen.

## 6. Literatur

1. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D: The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task Force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur Heart J* 1997;18:1231-1248
2. Lowel H, Lewis M, Hormann A: Prognostic significance of prehospital phase in acute myocardial infarct. Results of the Augsburg Myocardial Infarct Registry, 1985-1988. *Dtsch Med Wochenschr* 1991;116:729-733
3. Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Investigators: Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999;354:716-722
4. WHO: Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature. *Circulation* 1979;59:607-609
5. WHO: Hypertension and coronary heart disease: classification and criteria for epidemiological studies. *WHO Tech Support Ser* 1959;168:3-28
6. Braunwald E: Unstable angina. A classification. *Circulation* 1989;80:410-414
7. Hamm CW, Braunwald E: A classification of unstable angina revisited. *Circulation* 2000;102:118-122
8. Möckel M, Störk TV, Heller GJ, Röcker L, Danne O, Darrelmann KG, Eichstädt H, Frei U: Troponin T in patients with low grade or atypical angina. Identification of a high risk group for short- and long-term cardiovascular events. *Eur Heart J* 1998;19:1802-1807
9. Thygesen K: Do new biochemical markers of myocardial damage change the concept of unstable angina pectoris? *Eur Heart J* 1998;19:1749-1750
10. Braunwald E, Jones RH, Mark DB, Brown J, Brown L, Cheitlin MD, Concannon CA, Cowan M, Edwards C, Fuster V: Diagnosing and

managing unstable angina. Agency for Health Care Policy and Research. *Circulation* 1994;90:613-622

11. Braunwald E, Califf RM, Cannon CP, Fox KA, Fuster V, Gibler WB, Harrington RA, King SB, Kleiman NS, Theroux P, Topol EJ, Van de Werf F, White HD, Willerson JT: Redefining medical treatment in the management of unstable angina. *Am J Med* 2000;108:41-53
12. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction: Myocardial infarction redefined - A consensus document of the joint european society of Cardiology/American college of cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-1513
13. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, Katus H: It's time for a change to a troponin standard. *Circulation* 2000;102:1216-1220
14. Sobel BE, LeWinter MM: Ingenuous interpretation of elevated blood levels of macromolecular markers of myocardial injury: a recipe for confusion. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1355-1358
15. Möckel M, Schindler R, Knorr L, Müller C, Heller GJ, Störk TV, Frei U: Prognostic value of cardiac troponin T and I elevations in renal disease patients without acute coronary syndromes: a 9-month outcome analysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1489-1495
16. Wu AH, Jialal I: How specific is cardiac troponin? *Am J Clin Pathol* 2000;114:509-511
17. Wu AH, Ford L: Release of cardiac troponin in acute coronary syndromes: ischemia or necrosis? *Clin Chim Acta* 1999;284:161-174
18. Quinones MA: Risk stratification after myocardial infarction. Clinical science versus practice behavior. *Circulation* 1997;95:1352-1354

19. Killip T, Kimball JT: Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol* 1967;20:457-464
20. Becker RC, Burns M, Gore JM, Spencer FA, Ball SP, French W, Lambrew C, Bowlby L, Hilbe J, Rogers WJ: Early assessment and in-hospital management of patients with acute myocardial infarction at increased risk for adverse outcomes: a nationwide perspective of current clinical practice. The National Registry of Myocardial Infarction (NORMI-2) Participants. *Am Heart J* 1998;135:786-796
21. Goldman L, Cook EF, Johnson PA, Brand DA, Rouan GW, Lee TH: Prediction of the need for intensive care in patients who come to the emergency departments with acute chest pain. *N Engl J Med* 1996;334:1498-1504
22. Jacobs DRJ, Kroenke C, Crow R, Deshpande M, Gu DF, Gatewood L, Blackburn H: PREDICT: A simple risk score for clinical severity and long-term prognosis after hospitalization for acute myocardial infarction or unstable angina: the Minnesota heart survey. *Circulation* 1999;100:599-607
23. Lee TH, Rouan GW, Weisberg MC, Brand DA, Acampora D, Stasiulewicz C, Walshon J, Terranova G, Gottlieb L, Goldstein-Wayne B: Clinical characteristics and natural history of patients with acute myocardial infarction sent home from the emergency room. *Am J Cardiol* 1987;60:219-224
24. McCarthy BD, Beshansky JR, D'Agostino RB, Selker HP: Missed diagnoses of acute myocardial infarction in the emergency department: results from a multicenter study. *Ann Emerg Med* 1993;22:579-582
25. Zimmerman J, Fromm R, Meyer D, Boudreaux A, Wun CC, Smalling R, Davis B, Habib G, Roberts R: Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:1671-1677

26. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Remppis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U: Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem* 1992;38:386-393
27. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, Scheffold T, Diederich KW, Vinar G, Noe A, Matern G, Kuebler W: Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:902-912
28. Katus HA, Remppis A, Scheffold T, Diederich KW, Kuebler W: Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991;67:1360-1367
29. Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jorgensen P, Peheim E, Ljungdahl L, Goldmann B, Katus HA: The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med* 1992;327:146-150
30. Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, Granger CB, Katus HA, Hamm CW, O'Hanesian MA, Wagner GS, Kleiman NS, Harrell-FE J, Califf RM, Topol EJ: Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1333-1341
31. Newby LK, Christenson RH, Ohman EM, Armstrong PW, Thompson TD, Lee KL, Hamm CW, Katus HA, Cianciolo C, Granger CB, Topol EJ, Califf RM: Value of serial troponin T measures for early and late risk stratification in patients with acute coronary syndromes. The GUSTO-IIa Investigators. *Circulation* 1998;98:1853-1859
32. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, Fischer GA, Fung AY, Thompson C, Wybenga D, Braunwald E: Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335:1342-1349

33. Lüscher MS, Thygesen K, Ravkilde J, Heickendorff L: Applicability of cardiac troponin T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease. TRIM Study Group. Thrombin Inhibition in Myocardial ischemia. *Circulation* 1997;96:2578-2585
34. Wu AH: Analytical and clinical evaluation of new diagnostic tests for myocardial damage. *Clin Chim Acta* 1998;272:11-21
35. Möckel M, Heller GJ, Berg K, Klefisch F, Danne O, Müller C, Störk TV, Frei U, Wu AH: The acute coronary syndrome diagnosis and prognostic evaluation by troponin I is influenced by the test system affinity to different troponin complexes. *Clin Chim Acta* 2000;293:139-155
36. Gerhardt W, Katus H, Ravkilde J, Hamm C, Jorgensen PJ, Peheim E, Ljungdahl L, Lofdahl P: S-troponin T in suspected ischemic myocardial injury compared with mass and catalytic concentrations of S-creatine kinase isoenzyme MB. *Clin Chem* 1991;37:1405-1411
37. Wu AH, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdes RJ: National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104-1121
38. Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lovgren T, Severina ME, Pulkki K, Vuopio-Pulkki LM, Gusev NB: Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997;43:1379-1385
39. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, Bodor G: Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization. *Clin Chem* 1998;44:1198-1208
40. Katrukha AG, Bereznikova AV, Filatov VL, Esakova TV, Kolosova OV, Pettersson K, Lovgren T, Bulargina TV, Trifonov IR, Gratsiansky NA, Pulkki K, Voipio-Pulkki LM, Gusev NB: Degradation of cardiac troponin

I: implication for reliable immunodetection. *Clin Chem* 1998;44:2433-2440

41. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE: Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2000;102:1221-1226
42. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, Fischer GA, Fung AY, Thompson C, Wybenga D, Braunwald E: Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335:1342-1349
43. Stubbs P, Collinson P, Moseley D, Greenwood T, Noble M: Prognostic significance of admission troponin T concentrations in patients with myocardial infarction. *Circulation* 1996;94:1291-1297
44. Artner-Dworzak E, Mair J, Seibt I, Koller A, Haid C, Puschendorf B: Cardiac troponin T identifies unspecific increases of CKMB after physical exercise. *Clin Chem* 1990;36:1853
45. Bonetti A, Tirelli F, Albertini R, Monica C, Monica M, Tredici G: Serum cardiac troponin T after repeated endurance exercise events. *Int J Sports Med* 1996;17:259-262
46. Davila-Roman V.G., Guest TM, Tuteur PG, Rowe WJ, Ladenson JH, Jaffe AS: Transient right but not left ventricular dysfunction after strenuous exercise at high altitude. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:468-473
47. Denvir MA, Galloway PJ, Meighan AS, Blyth M, Alexander C, Fleming C, Frame F: Changes in skeletal and cardiac muscle enzymes during the Scottish Coast to Coast Triathlon. *Scott Med J* 1999;44:49-51
48. Koller A, Mair J, Schobersberger W, Wohlfarter T, Haid C, Mayr M, Villiger B, Frey W, Puschendorf B: Effects of prolonged strenuous endurance exercise on plasma myosin heavy chain fragments and other muscular proteins. Cycling vs running. *J Sports Med Phys Fitness* 1998;38:10-17

49. Laslett L, Eisenbud E, Lind R: Evidence of myocardial injury during prolonged strenuous exercise. *Am J Cardiol* 1996;78:488-490
50. Lucia A, Serratos L, Saborido A, Pardo J, Boraita A, Moran M, Bandres F, Megias A, Chicharro JL: Short-term effects of marathon running: no evidence of cardiac dysfunction. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31:1414-1421
51. Mair J, Genser N, Morandell D, Maier J, Mair P, Lechleitner P, Calzolari C, Larue C, Ambach E, Dienstl F, Pau B, Puschendorf B: Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clin Chim Acta* 1996;245:19-38
52. Mair J, Schobersberger W, Koller A, Bialk P, Villiger B, Frey W, Puschendorf B: Risk for exercise-induced myocardial injury for athletes performing prolonged strenuous endurance exercise. *Am J Cardiol* 1997;80:543-544
53. Mair J, Wohlfarter T, Koller A, Mayr M, Artner-Dworzak E, Puschendorf B: Serum cardiac troponin T after extraordinary endurance exercise. *Lancet* 1992;340:1048
54. Rifai N, Douglas PS, O'Toole M, Rimm E, Ginsburg GS: Cardiac troponin T and I, echocardiographic wall motion analyses, and ejection fractions in athletes participating in the Hawaii Ironman Triathlon. *Am J Cardiol* 1999;83:1085-1089
55. Siegel AJ, Sholar M, Yang J, Dhanak E, Lewandrowski KB: Elevated serum cardiac markers in asymptomatic marathon runners after competition: is the myocardium stunned? *Cardiology* 1997;88:487-491
56. Willich SN, Lewis M, Lowel H, Arntz HR, Schubert F, Schroder R: Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. Triggers and Mechanisms of Myocardial Infarction Study Group. *N.Engl.J.Med.* 1993;329:1684-1690



57. Mittleman MA, Maclure M, Tofler GH, Sherwood JB, Goldberg RJ, Muller JE: Triggering of acute myocardial infarction by heavy physical exertion. Protection against triggering by regular exertion. Determinants of Myocardial Infarction Onset Study Investigators. *N Engl J Med* 1993;329:1677-1683
58. Curfman GD: Is exercise beneficial--or hazardous--to your heart? *N Engl J Med* 1993;329:1730-1731
59. Curfman GD: The health benefits of exercise. A critical reappraisal. *N.Engl.J.Med.* 1993;328:574-576
60. Wheeler DC: Cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. *Lancet* 1996;348:1673-1674
61. Jaffe AS, Ritter C, Meltzer V, Harter H, Roberts R: Unmasking artifactual increases in creatine kinase isoenzymes in patients with renal failure. *J Lab Clin Med* 1984;104:193-202
62. Katus HA, Haller C, Muller BM, Scheffold T, Remppis A: Cardiac troponin T in end-stage renal disease patients undergoing chronic maintenance hemodialysis. *Clin Chem* 1995;41:1201-1203
63. Li D, Jialal I, Keffer J: Greater frequency of increased cardiac troponin T than increased cardiac troponin I in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1996;42:114-115
64. Li D, Keffer J, Corry K, Vazquez M, Jialal I: Nonspecific elevation of troponin T levels in patients with chronic renal failure. *Clin Biochem* 1995;28:474-477
65. Collinson PO, Stubbs PJ, Rosalki SB: Cardiac troponin T in renal disease. *Clin Chem* 1995;41:1671-1673
66. Hafner G, Thome KB, Schaube J, Kupferwasser I, Ehrental W, Cummins P, Prellwitz W, Michel G: Cardiac troponins in serum in chronic renal failure. *Clin Chem* 1994;40:1790-1791

67. Bhayana V, Gougoulas T, Cohoe S, Henderson AR: Discordance between results for serum troponin T and troponin I in renal disease. *Clin Chem* 1995;41:312-317
68. McLaurin MD, Apple FS, Voss EM, Herzog CA, Sharkey SW: Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle. *Clin Chem* 1997;43:976-982
69. Frankel WL, Herold DA, Ziegler TW, Fitzgerald RL: Cardiac troponin T is elevated in asymptomatic patients with chronic renal failure. *Am J Clin Pathol* 1996;106:118-123
70. Adams JE, Bodor GS, Davila R, V, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, Jaffe AS: Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993;88:101-106
71. Trinquier S, Flecheux O, Bullenger M, Castex F: Highly specific immunoassay for cardiac troponin I assessed in noninfarct patients with chronic renal failure or severe polytrauma. *Clin Chem* 1995;41:1675-1676
72. Ooi DS, Veinot JP, Wells GA, House AA: Increased mortality in hemodialyzed patients with elevated serum troponin T: a one-year outcome study. *Clin Biochem* 1999;32:647-652
73. Collinson PO, Stubbs PJ, Morgan SH: Cardiac troponin-I accurately predicts myocardial injury in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1030-1031
74. Porter GA, Norton T, Bennett WB: Troponin T, a predictor of death in chronic haemodialysis patients. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl N:N34-N37
75. Feng YJ, Chen C, Fallon JT, Lai T, Chen L, Knibbs DR, Waters DD, Wu AH: Comparison of cardiac troponin I, creatine kinase-MB, and myoglobin for detection of acute ischemic myocardial injury in a swine model. *Am J Clin Pathol* 1998;110:70-77

76. Heyndrickx GR, Amano J, Kenna T, Fallon JT, Patrick TA, Manders WT, Rogers GG, Rosendorff C, Vatner SF: Creatine kinase release not associated with myocardial necrosis after short periods of coronary artery occlusion in conscious baboons. *J Am Coll Cardiol* 1985;6:1299-1303
77. Gerhardt W, Ljungdahl L: Troponin T: a sensitive and specific diagnostic and prognostic marker of myocardial damage. *Clin Chim Acta* 1998;272:47-57
78. Möckel M, Gerhardt W, Heller GJ, Klefisch F, Danne O, Maske J, Müller C, Störk T, Frei U, Wu AH: Validation of NACB and IFCC guidelines for the use of cardiac markers for early diagnosis and risk assessment in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2001;303:167-179
79. Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41
80. Möckel M, Scheinert D, Potapov E, Wellenhofer E, Combé V, Nasserli B, Maier D, Meyer S, Yankah C, Hetzer R, Frei U, Eckardt, K.-U.: Continuous measurements of renal perfusion in pigs by means of intravascular Doppler. *Kidney Int* 2001;(in press)
81. Baum H, Braun S, Gerhardt W, Gilson G, Hafner G, Muller BM, Stein W, Klein G, Ebert C, Hallermayer K, Katus HA: Multicenter evaluation of a second-generation assay for cardiac troponin T. *Clin.Chem.* 1997;43:1877-1884
82. Fagan GJ: Entwicklung und Charakterisierung der Troponin-Antikörper für das Opus Immunoassay-System, in Hossmann V, Thomas L (eds): *Aktuelle Aspekte in Diagnostik und Therapie kardialer Erkrankungen*. Frankfurt, TH-Books Verlagsgesellschaft, 1997, pp 21-29
83. Lindahl B, Venge P, Wallentin L: Relation between troponin T and the risk of subsequent cardiac events in unstable coronary artery disease. The FRISC study group. *Circulation* 1996;93:1651-1657

84. Hegner N, Baum H, Eller T, Messinger M, Möckel M, Mühlbayer D, Remmlinger H.P., Störk T, Zinsmeyer J: Multizentrische Evaluierung von OPUS Troponin I im Vergleich zu Myoglobin und der CK-MB-Konzentration bei kardialen Erkrankungen. *Clin Lab* 1997;43:369-382
85. Wu AH, Feng YJ, Contois JH, Azar R, Waters D: Prognostic value of cardiac troponin I in patients with chest pain. *Clin Chem* 1996;42:651-652
86. Wu AH, Feng YJ, Contois JH, Pervaiz S: Comparison of myoglobin, creatine kinase-MB, and cardiac troponin I for diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Clin Lab Sci* 1996;26:291-300
87. Störk T, Möckel M, Danne O, Abraham K, Müller R, Eichstädt H, Frei U: Myoglobin beim akuten Myokardinfarkt. Klinische Wertigkeit in der Infarktdiagnostik. *Intensivmed* 1995;32:129-137
88. Voss EM, Sharkey SW, Gernert AE, Murakami MM, Johnston RB, Hsieh CC, Apple FS: Human and canine cardiac troponin T and creatine kinase-MB distribution in normal and diseased myocardium. Infarct sizing using serum profiles. *Arch Pathol Lab Med* 1995;119:799-806
89. Henderson AR, Bhayana V: A modest proposal for the consistent presentation of ROC plots in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 1995;41:1205-1206
90. Lindahl B, Venge P, Wallentin L: Troponin T identifies patients with unstable coronary artery disease who benefit from long-term antithrombotic protection. Fragmin in Unstable Coronary Artery Disease (FRISC) Study Group. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:43-48
91. Lopez-Jimenez F, Goldman L, Sacks DB, Thomas EJ, Johnson PA, Cook EF, Lee TH: Prognostic value of cardiac troponin T after noncardiac surgery: 6-month follow-up data. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1241-1245
92. Bakker AJ, Koelemay MJ, Gorgels JP, van Vlies B, Smits R, Tijssen JG, Haagen FD: Failure of new biochemical markers to exclude acute myocardial infarction at admission. *Lancet* 1993;342:1220-1222

93. Dati F, Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Mair J, Wu AH: Proposals from the IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD): strategies and concepts on standardization of cardiac marker assays. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999;230:113-123
94. Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH: Proposals from IFCC Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage (C-SMCD): recommendations on use of biochemical markers of cardiac damage in acute coronary syndromes. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999;230:103-112
95. Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH: Use of biochemical markers in acute coronary syndromes. IFCC Scientific Division, Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage. International Federation of Clinical Chemistry. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:687-693
96. Reimer KA, Jennings RB: The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979;40:633-644
97. Fredericks S, Merton GK, Lerena MJ, Heining P, Carter ND, Holt DW: Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. *Clin Chim Acta* 2001;304:65-74
98. Horstick G, Heimann A, Gotze O, Hafner G, Berg O, Boehmer P, Becker P, Darius H, Rupprecht HJ, Loos M, Bhakdi S, Meyer J, Kempfski O: Intracoronary application of C1 esterase inhibitor improves cardiac function and reduces myocardial necrosis in an experimental model of ischemia and reperfusion. *Circulation* 1997;95:701-708
99. O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, Di Battista TH, Miller KE, Jackson KN, Mittelstadt S: Cardiac troponin T is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci* 1997;47:486-495

100. O'Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH: Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997;43:2333-2338
101. Lindahl B, Venge P, Wallentin L: Early diagnosis and exclusion of acute myocardial infarction using biochemical monitoring. The BIOMACS Study Group. Biochemicals Markers of Acute Coronary Syndromes. *Coron Artery Dis* 1995;6:321-328
102. Bhayana V, Cohoe S, Pellar TG, Jablonsky G, Henderson AR: Combination (multiple) testing for myocardial infarction using myoglobin, creatine kinase-2 (mass), and troponin T. *Clin Biochem* 1994;27:395-406
103. Gerhardt W, Ljungdahl L, Herbert AK: Troponin-T and CK MB (mass) in early diagnosis of ischemic myocardial injury. The Helsingborg Study, 1992. *Clin Biochem* 1993;26:231-240
104. Van-Blerk M, Maes V, Huyghens L, Derde MP, Meert R, Gorus FK: Analytical and clinical evaluation of creatine kinase MB mass assay by IMx: comparison with MB isoenzyme activity and serum myoglobin for early diagnosis of myocardial infarction. *Clin Chem* 1992;38:2380-2386
105. Hamm CW, Goldmann BU, Heeschen C, Kreymann G, Berger J, Meinertz T: Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *N Engl J Med* 1997;337:1648-1653
106. Gerhardt W, Ljungdahl L: Detection of myocardial damage by serial measurements of cardiac troponin T, CK MBmass, and TROPT rapid test. *Cardiovasc Drugs Ther* 1997;11 Suppl 1:227-240
107. Bakker AJ, Koelemay MJ, Gorgels JP, van Vlies B, Smits R, Tijssen JG, Haagen FD: Troponin T and myoglobin at admission: value of early diagnosis of acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1994;15:45-53

108. Gerhardt W, Nordin G, Ljungdahl L: Can troponin T replace CK MBmass as "gold standard" for acute myocardial infarction ("AMI")? *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999;230:83-89
109. Boden WE, O'Rourke RA, Crawford MH, Blaustein AS, Deedwania PC, Zoble RG, Wexler LF, Kleiger RE, Pepine CJ, Ferry DR, Chow BK, Lavori PW: Outcomes in patients with acute non-Q-wave myocardial infarction randomly assigned to an invasive as compared with a conservative management strategy. Veterans Affairs Non-Q-Wave Infarction Strategies in Hospital (VANQWISH) Trial Investigators. *N Engl J Med* 1998;338:1785-1792
110. Lindahl B, Andren B, Ohlsson J, Venge P, Wallentin L: Noninvasive risk stratification in unstable coronary artery disease: exercise test and biochemical markers. FRISC Study Group. *Am J Cardiol* 1997;80:40E-44E
111. Mair J, Artner DE, Lechleitner P, Smidt J, Wagner I, Dienstl F, Puschendorf B: Cardiac troponin T in diagnosis of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1991;37:845-852
112. Ellis AK: Serum protein measurements and the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 1991;83:1107-1109
113. Mair J, Smidt J, Lechleitner P, Dienstl F, Puschendorf B: Rapid accurate diagnosis of acute myocardial infarction in patients with non-traumatic chest pain within 1 h of admission. *Coron Artery Dis* 1995;6:539-545
114. Ravkilde J, Horder M, Gerhardt W, Ljungdahl L, Pettersson T, Tryding N, Moller BH, Hamfelt A, Graven T, Asberg A, et al: Diagnostic performance and prognostic value of serum troponin T in suspected acute myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;53:677-685
115. Collinson PO, Stubbs PJ: The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med* 1992;327:1760-1761

116. Ravkilde J, Nissen H, Horder M, Thygesen K: Independent prognostic value of serum creatine kinase isoenzyme MB mass, cardiac troponin T and myosin light chain levels in suspected acute myocardial infarction. Analysis of 28 months of follow-up in 196 patients. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:574-581
117. Kelly DT, Wilcox I: Determinants of prognosis in unstable angina. *Postgrad Med J* 1994;70 Suppl 1:S46-S49
118. Miltenburg-van-Zijl AJ, Simoons ML, Veerhoek RJ, Bossuyt PM: Incidence and follow-up of Braunwald subgroups in unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1286-1292
119. Wu AH, Feng YJ: Biochemical differences between cTnT and cTnI and their significance for diagnosis of acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl N:N25-N29
120. Messner B, Baum H, Fischer P, Quasthoff S, Neumeier D: Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle. *Am J Clin Pathol* 2000;114:544-549
121. Chen Y, Serfass RC, Mackey BS, Kelly KL, Titus JL, Apple FS: Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J Appl Physiol* 2000;88:1749-1755
122. Collinson PO, Chandler HA, Stubbs PJ, Moseley DS, Lewis D, Simmons MD: Measurement of serum troponin T, creatine kinase MB isoenzyme, and total creatine kinase following arduous physical training. *Ann Clin Biochem* 1995;32:450-453
123. Müller-Bardorff M, Hallermayer K, Schröder A, Ebert C, Borgya A, Gerhardt W, Remppis A, Zehelein J, Katus HA: Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1997;43:458-466
124. Cummins P, Young A, Auckland ML, Michie CA, Stone PC, Shepstone BJ: Comparison of serum cardiac specific troponin-I with creatine kinase,



creatine kinase-MB isoenzyme, tropomyosin, myoglobin and C-reactive protein release in marathon runners: cardiac or skeletal muscle trauma? *Eur J Clin Invest* 1987;17:317-324

125. Rowe WJ: A world record marathon runner with silent ischemia without coronary atherosclerosis. *Chest* 1991;99:1306-1308
126. Rowe WJ: Extraordinary unremitting endurance exercise and permanent injury to normal heart. *Lancet* 1992;340:712-714
127. Haskell WL, Sims C, Myll J, Bortz WM, St Goar FG, Alderman EL: Coronary artery size and dilating capacity in ultradistance runners. *Circulation* 1993;87:1076-1082
128. Dierkes J, Domrose U, Westphal S, Ambrosch A, Bosselmann HP, Neumann KH, Luley C: Cardiac troponin T predicts mortality in patients with end-stage renal disease. *Circulation* 2000;102:1964-1969
129. Stolear JC, Georges B, Shita A, Verbeelen D: The predictive value of cardiac troponin T measurements in subjects on regular haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1961-1967
130. Bodor GS, Survant L, Voss EM, Smith S, Porterfield D, Apple FS: Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clin Chem* 1997;43:476-484
131. Apple FS, Ricchiuti V, Voss EM, Anderson PA, Ney A, Odland M: Expression of cardiac troponin T isoforms in skeletal muscle of renal disease patients will not cause false-positive serum results by the second generation cardiac troponin T assay. *Eur Heart J* 1998;19 Suppl N:N30-N33
132. Ricchiuti V, Apple FS: RNA expression of cardiac troponin T isoforms in diseased human skeletal muscle. *Clin Chem* 1999;45:2129-2135
133. Ricchiuti V, Voss EM, Ney A, Odland M, Anderson PA, Apple FS: Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not

cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim. *Clin Chem* 1998;44:1919-1924

134. Martin GS, Becker BN, Schulman G: Cardiac troponin-I accurately predicts myocardial injury in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1709-1712
135. Ingwall JS, Kramer MF, Fifer MA, Lorell BH, Shemin R, Grossman W, Allen PD: The creatine kinase system in normal and diseased human myocardium. *N Engl J Med* 1985;313:1050-1054
136. Sackett DL: Rules of evidence and clinical recommendations on the use of antithrombotic agents. *Chest* 1989;95:2S-4S
137. Hamm CW, Heeschen C, Goldmann BU, Vahanian A, Adgey J, Miguel CM, Rutsch W, Berger J, Kootstra J, Simoons ML, for the c7E3 Fab Antiplatelet in Unstable Refractory Angina (CAPTURE) Study Investigators: Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. *N Engl J Med* 1999;340:1623-1629
138. Ishikawa Y, Saffitz JE, Mealman TL, Grace AM, Roberts R: Reversible myocardial ischemic injury is not associated with increased creatine kinase activity in plasma. *Clin Chem* 1997;43:467-475
139. Störk T, Wu AH, Müller-Bardorff M, Gareis R, Müller R, Katus H, Möckel M: Diagnostic, and prognostic role of myoglobin in suspected acute coronary syndrome patients. *Am J Cardiol* 2000;86:1371-1374
140. Wexler LF, Blaustein AS, Lavori PW, Lehmann KG, Wade M, Boden WE: Non-Q-wave myocardial infarction following thrombolytic therapy: a comparison of outcomes in patients randomized to invasive or conservative post-infarct assessment strategies in the Veterans Affairs non-Q-wave Infarction Strategies In-Hospital (VANQWISH) Trial. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:19-25

141. Chaitman BR, Bitar SR: Is ST segment elevation non-Q-wave myocardial infarction after thrombolytic therapy a new clinical entity that requires an invasive management strategy? *J Am Coll Cardiol* 2001;37:26-29
142. Wallentin L, Lagerqvist B, Husted S, Kontny F, Stahle E, Swahn E: Outcome at 1 year after an invasive compared with a non-invasive strategy in unstable coronary-artery disease: the FRISC II invasive randomised trial. FRISC II Investigators. Fast Revascularisation during Instability in Coronary artery disease. *Lancet* 2000;356:9-16
143. Morrow DA, Antman EM, Tanasijevic M, Rifai N, de Lemos JA, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E: Cardiac troponin I for stratification of early outcomes and the efficacy of enoxaparin in unstable angina: a TIMI-11B substudy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1812-1817

## 7. Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. Ulrich Frei für die jahrelange Unterstützung bei der Durchführung der klinischen und experimentellen Studien in der von ihm geleiteten Medizinischen Klinik. Seine kritischen und weitblickenden Vorschläge haben den Rahmen für den Erfolg dieser Arbeit gesteckt.

Herr Professor Dr. Hans Hochrein und Herr Priv.-Doz. Dr. Thomas Störk haben durch ihre Ideen und fachliche Unterstützung den Beginn der Projekte 1993 ermöglicht und mir über mehrere Jahre mit wertvollen Ratschlägen zur Seite gestanden.

Professor Alan Wu, Hartford, CT, USA, hat mich in uneigennütziger Weise gefördert und insbesondere an den experimentellen Teil der Arbeit herangeführt. Einige Analysen der Tierexperimente wurden in seinem Labor mit tatkräftiger Unterstützung von Stacey Wiczorek durchgeführt.

Ich danke weiterhin Herrn Professor Willie Gerhardt, Helsingborg, Schweden, der nicht müde wurde, meine Manuskripte zu korrigieren, und insbesondere bei der Analyse und Interpretation der klinischen Studien eine unschätzbare Hilfe war.

Herr Dr. Christian Müller, Institut für Klinische Chemie, Charité/Virchow-Klinikum, und Herr Professor Dr. Lothar Röcker, Physiologisches Institut, Freie Universität Berlin, waren eine große Stütze bei der Durchführung der analytisch-chemischen Messungen. In dieser Hinsicht sei auch der MTA Frau Gerhild Fiolka gedankt, die immer wieder hilfreich zur Verfügung stand.

Herr Dr. Oliver Danne aus unserer Klinik hat bei der Durchsicht des Manuskripts zahlreiche hilfreiche Anregungen gegeben und hat über Jahre die praktische Durchführung der klinischen Studien wesentlich unterstützt.

Herr Dr. Evgenij Potapov, Deutsches Herzzentrum Berlin, war eine große Hilfe bei der Durchführung der Tierexperimente. Herr Professor Dr. Rudolf Meyer, Deutsches Herzzentrum Berlin, stellte seine pathologische Expertise und mikroskopische Technik großzügig zur Verfügung und war immer ein anregender und freundlicher Gesprächspartner. Herr Dr. Reinhard Pregla, Deutsches Herzzentrum Berlin, ermöglichte die Durchführung der molekularbiologischen Methoden, und Herr Dr. Ernst Wellnhofer sowie Herr Volker Combé, Deutsches Herzzentrum Berlin, halfen sehr bei der Durchführung der Tierversuche und der computergestützten Dokumentation.

Ich danke nicht zuletzt meinen Kollegen Herrn Dr. Frank-Rainer Klefisch, Herrn Dr. Dierk Scheinert und Herrn Dr. Ragnar Gareis für ihre wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der klinischen Studien und die Mitbetreuung der Patienten.

Frau Christiane Ulrich und Frau Irina Tafel, Staatsbibliothek Berlin, waren eine große Hilfe bei den Literaturrecherchen.

Schließlich haben meine Doktoranden und studentischen Hilfskräfte über Jahre hinweg und oftmals rund um die Uhr eine unverzichtbare Leistung vollbracht: Herr Dr. Jörn Vollert, Herr Klaus gr. Darrelmann, Herr Matthias Riehle, Herr Jakob Maske, Frau Katrin Berg, Herr Dr. Ludwig Knorr, Herr Christoph Logge, Herr Dirk Maier und Frau Sabine Meyer.

Den Probanden und Patienten danke ich für ihre Teilnahme an den klinischen Studien.

Mein herzlichster Dank gilt meiner Frau Natalie-Viviane Ulrich-Möckel, der diese Arbeit gewidmet ist und die bei der Korrektur und abschließenden Gestaltung des Manuskripts eine unschätzbare Hilfe bedeutete. Sie war es, die mich menschlich und inhaltlich bei den Arbeiten an dieser Habilitation in jeder Phase unterstützt hat und geduldig die Belastungen ertrug, die sich aus der zeitweise uferlos scheinenden Arbeit an den Forschungsprojekten ergeben haben. Unser Sohn Linus Fritz Felix hat durch sein herzliches Lachen immer wieder jede Müdigkeit verschwinden und die kurzen Nächte vergessen lassen.